MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

BEIRAT:

H. K. BARRENSCHEEN-WIEN · W. BÖTTGER-HANNOVER
H. V. A. BRISCOE-LONDON · F. EMICH-GRAZ · B. FLASCHENTRÄGER-ZÜRICH · A. FRANKE-WIEN · M. FURTER-ZÜRICH · E. GLEDITSCH-OSLO · J. HEYROVSKÝ-PRAG · O. HÖNIGSCHMID-MÜNCHEN · H. LIEB-GRAZ · J. LINDNER-INNSBRUCK · C. J. VAN NIEUWENBURG-DELFT
E. SPÄTH-WIEN · P. A. THIESSEN-BERLIN · P. WENGER-GENF
L. ZECHMEISTER-PÉCS

SCHRIFTLEITUNG:

A. A. BENEDETTI-PICHLER
NEW YORK

W. F. EHRET
NEW YORK

J. W. MATTHEWS
LONDON

F. HECHT
WIEN

BAND XXVI, ERSTES UND ZWEITES HEFT
MIT 46 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 14. FEBRUAR 1939)

WIEN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1939

Mikrochemie

Die Zeitschrift

„Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen. Je 3—4 Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 40.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als einen Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. Abhandlungen polemischen Inhaltes werden nur dann zugelassen, wenn sie tatsächliche Richtigstellungen enthalten. Die Entscheidung über die Aufnahme steht allein der Schriftleitung zu.

Manuskripte sind zu senden an die

Schriftleitung der „Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"
Wien I, Schottengasse 4

bezw. aus **Großbritannien** und den **Dominien** an

Frau Dr. J. W. Matthews, "Ester", Fetcham/Leatherhead, England;

aus den **Vereinigten Staaten von Nordamerika** an

Professor A. A. Benedetti-Pichler oder *Professor W. F. Ehret,*
Chemistry Department, Washington Square College, New York, N. Y./USA.

Beiträge werden in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache angenommen. Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Es können somit grundsätzlich nur Arbeiten aufgenommen werden, die vorher weder im Inlande noch im Auslande veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen sich der Verfasser verpflichtet.

Die Verfasser erhalten eine *Fahnenkorrektur*; Revisionen können grundsätzlich nicht geliefert werden. Bei Beiträgen von in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeitern werden die Korrekturen dieser Beiträge im Interesse eines beschleunigten Erscheinens von der Schriftleitung gelesen. Wird jedoch die Übersendung von Fahnenabzügen zur Korrektur gewünscht, so muß die sich daraus ergebende spätere Veröffentlichung von dem Verfasser in Kauf genommen werden.

Die Verfasser erhalten für ihre Arbeit einen Unkostenersatz von RM 20.— für den Druckbogen, im Höchstfalle RM 30.—, und 75 unentgeltliche Sonderdrucke.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Verlag von Julius Springer in Wien I

XXVI. Band — Inhaltsverzeichnis — 1. und 2. Heft

Seite

Almeida, A. G. de. Theoretisches zur Farbanalyse 1

Almeida, A. G. de. Experimentelle Grundlage zur Bestimmung des Wasserstoffions durch Farbanalyse 9

Nagel, R. H. A Micro Titrimetric Dry Combustion Method for Carbon (II) 22

Frediani, H. A. and L. Gamble. The Microscopical Detection of Rubidium in the Presence of Cesium 25

Niederl, J. B. and V. Niederl. Simplified Combustion Tube Filling for Micro Carbon and Hydrogen Determinations..... 28

Adams, J. I., A. A. Benedetti-Pichler and J. T. Briant. Confirmatory Tests for Lithium, Sodium, Potassium, Cesium, Strontium, and Lead 29

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

BEIRAT:

H. K. BARRENSCHEEN-WIEN · W. BÖTTGER-HANNOVER
H. V. A. BRISCOE-LONDON · F. EMICH-GRAZ · B. FLASCHENTRÄGER-ZÜRICH · A. FRANKE-WIEN · M. FURTER-ZÜRICH · E. GLEDITSCH-OSLO · J. HEYROVSKÝ-PRAG · O. HÖNIGSCHMID-MÜNCHEN · H. LIEB-GRAZ · J. LINDNER-INNSBRUCK · C. J. VAN NIEUWENBURG-DELFT
E. SPÄTH-WIEN · P. A. THIESSEN-BERLIN · P. WENGER-GENF
L. ZECHMEISTER-PÉCS

SCHRIFTLEITUNG:

A. A. BENEDETTI-PICHLER
NEW YORK

W. F. EHRET
NEW YORK

J. W. MATTHEWS
LONDON

F. HECHT
WIEN

XXVI. BAND

WIEN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1939

Inhaltsverzeichnis.

Erstes und zweites Heft.

(Abgeschlossen am 14. Februar 1939.)

Seite

Almeida, A. G. de. Theoretisches zur Farbanalyse 1

Almeida, A. G. de. Experimentelle Grundlage zur Bestimmung des Wasserstoffions durch Farbanalyse 9

Nagel, R. H. A Micro Titrimetric Dry Combustion Method for Carbon (II) 22

Frediani, H. A. and **L. Gamble.** The Microscopical Detection of Rubidium in the Presence of Cesium 25

Niederl, J. B. and **V. Niederl.** Simplified Combustion Tube Filling for Micro Carbon and Hydrogen Determinations 28

Adams, J. I., A. A. Benedetti-Pichler and **J. T. Briant.** Confirmatory Tests for Lithium, Sodium, Potassium, Cesium, Strontium, and Lead 29

Frehden, O. und **K. Fürst.** Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (VII) 36

Frehden, O. und **K. Fürst.** Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (VIII) 39

Frehden, O. und **Chen-Hua Huang.** Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (IX) 41

Küchler, L. und **O. G. Weller.** Zur Mikroanalyse niedrigsiedender Kohlenwasserstoffe mittels fraktionierter Desorption 44

Browning, B. L. Micro Extraction Apparatus and Separatory Funnel.. 54

Van Straten, F. W. and **W. F. Ehret.** An Apparatus for Conducting Reactions and Extractions in Special Atmospheres 56

Schmid, L. und **W. Hosse.** Bestandteile der Klatschmohnblüten 59

Mahr, C. Ein neuer mikrochemischer Bleinachweis 67

Szebellédy, L. und **M. Ajtai.** Die Aktivierung der katalytischen Reaktion des Vanadins mit Brenzcatechin 72

Szebellédy, L. und **M. Ajtai.** Die Aktivierung der katalytischen Reaktionen des Vanadins mit o-Oxychinolin 75

Szebellédy, L. und **M. Ajtai.** Die quantitative Bestimmung von Vanadin mittels aktivierter Katalyse 87

Seite

Glass, J. Eine quantitative chemische Methode zur Bestimmung des Mucin- (Schleim-) Gehaltes im Magensaft, Speichel und Sputum ... 95

Zambotti, V. I fondamenti chimici e chimico-fisici della microdeterminazione colorimetrica dell'acido fosforico mediante l'azzurro di molibdeno (I) ... 113

Chinoy, Jamshedji Jijibhoy. A New Colorimetric Method for the Determination of Starch Applied to Soluble Starch, Natural Starches, and Flour 132

Johnson, D. L. and C. L. Shrewsbury. An Improved Mercury Control for Capillary Burettes ... 143

Heatley, N. G. An easily made Microburette ... 147

Scholtis, K. Mikrobestimmung des Calciums in Serum und Serum-Ultrafiltraten ... 150

Krainick, H. G. Photometrische Mikrobestimmung des Silbers ... 158

Nath, M. C. A Note on Some Modifications of *Pregl's* Method for the Microanalytical Determinations of Carbon and Hydrogen in the Humid Atmosphere of Summer of a Tropical Country ... 165

Costeanu, N. D. Nachweis und Bestimmung des Silbers auf mikrochemischem Wege mit Hilfe von mit reduzierenden Lösungen getränktem Filtrierpapier ... 170

Funck, E. Eiweißbestimmung in *Melilotus albus* mit Hilfe des *Pulfrich*schen Stufenphotometers ... 175

Weygand, C. und A. Werner. Beiträge zur mikroanalytischen Halogenbestimmung ... 177

Bontinck, E. Gemäldeuntersuchung. Die Hepar-Probe bei der Analyse von natürlichem und künstlichem Ultramarin und anderen schwefelhaltigen Farbstoffen ... 182

Nadler, Edith. Fortlaufende Literaturübersicht über Arbeiten mikrochemischen Inhaltes ... 188

Buchbesprechungen ... 217

Drittes Heft.

(Abgeschlossen am 20. März 1939.)

Berisso, B. Mikrochemische Erkennung der Metalle der ersten Gruppe *in situ* ohne vorherige Trennung ... 221

Martini, A. Beitrag zur Mikrochemie des Yohimbins ... 227

Martini, A. und J. C. Baró Graf. Über einige mikrochemische Unterscheidungsreaktionen für Cocain, Novocain und Stovain ... 233

Martini, A. und B. Berisso. Mikrochemischer Nachweis der Blausäure in gerichtschemischen Untersuchungen ... 241

Hynes, W. A. and L. K. Yanowski. Studies on the Application of Salts of Complex Cations to the Microscopic Detection of Anions, VII. ... 245

Ballczo, H. Über eine Rührvorrichtung für mikroanalytische Zwecke .. 248

Ballczo, H. Ein praktischer Behelf zum Auswaschen von Niederschlägen mit dem Filtrat ... 250

Seite

Balłczo, H. Eine Vorrichtung zum Auflösen kleiner Substanzmengen in der Hitze bei gegebenem Volumen 252

Fischer, R. Eine Mikrobestimmung von Veronal in Blut und Liquor.... 255

Eigenberger, E. Dichtebestimmung in kleinen Flüssigkeitsmengen mit der Mikro-Auftriebswaage 264

Eigenberger, E. Beitrag zur Mikro-Verbrennungsanalyse leicht flüchtiger Flüssigkeiten 273

Dénes, Susanne. Jodometrische Mikro-Kaliumbestimmungen im Serum 277

Nadler, Edith. Fortlaufende Literaturübersicht über Arbeiten mikrochemischen Inhaltes 282

Buchbesprechungen 304

Viertes Heft.

(Abgeschlossen am 14. April 1939.)

Claudatus, I. Die Mikrobestimmung des Polypeptidstickstoffs in biologischen Flüssigkeiten unter Anwendung einer automatischen Kontrolle 305

Claudatus, I. et **A. Gheorghiu.** Nouvelle microméthode pour le dosage des acides gras du sang après oxydation sulfo-iodique..... 311

Jurány, H. Mikronachweis der Salicylsäure als Silbersalicylat 314

Malowan, L. S. Determination of Zinc and Copper with Morpholine 319

Dworzak, R. und **H. Balłczo.** Kritische Überprüfung der Kalium bestimmung mit Dipikrylaminmagnesium. Die Mikro-Kaliumbestimmung und eine Kalium-Natrium-Trennung 322

Diemair, W. und **H. Fox.** Erfahrungen über die Bestimmung kleiner Arsenmengen 343

Funck, E. Ein einfaches Verfahren zur Ammoniakbestimmung in Ab- und Drainagewässern 349

Nadler, Edith. Fortlaufende Literaturübersicht über Arbeiten mikrochemischen Inhaltes 352

Buchbesprechungen 362

Aus dem gerichtl.-medizin. Institut der Universität Lissabon, chem. Abteilung.

Theoretisches zur Farbanalyse.*

Von

A. G. de Almeida.

(Eingelangt am 28. April 1938.)

Der Berechnungsweise einer Farbe nach Farbton und Sättigung durch Farbanalyse, wie sie z. B. bei *E. Haschek* und *M. Haitinger*[1] zu ersehen ist, liegen einige Sätze zugrunde, die, wie ich glaube, ausdrücklich ausgesprochen und bewiesen werden müssen, etwa wie im folgenden:

Satz I. *Die Erregungen der Grundempfindungen stehen zueinander in derselben Proportion wie ihre Anteile.*

Wenn $\bar{r}$, $\bar{g}$, $\bar{b}$ die Erregungen der Grundempfindungen und r, g, b deren Anteile darstellen, so ist definitionsgemäß:

$$\left.\begin{aligned} r &= \frac{\bar{r}}{\bar{r}+\bar{g}+\bar{b}}, \\ g &= \frac{\bar{g}}{\bar{r}+\bar{g}+\bar{b}}, \\ b &= \frac{\bar{b}}{\bar{r}+\bar{g}+\bar{b}}, \end{aligned}\right\} \tag{1}$$

womit:

$$r + g + b = 1. \tag{2}$$

Daraus folgt:

$$\frac{r}{g} = \frac{\bar{r}}{\bar{g}}, \qquad \frac{r}{b} = \frac{\bar{r}}{\bar{b}}, \qquad \frac{g}{b} = \frac{\bar{g}}{\bar{b}}, \tag{3}$$

oder:

$$\bar{r} : \bar{g} : b = r : g : b. \tag{4}$$

---

* Diese Arbeit war für den 25. Band der „Mikrochemie" bestimmt, kann jedoch aus technischen Gründen erst im vorliegenden Heft veröffentlicht werden. Sie wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

[1] *E. Haschek* und *M. Haitinger*, Farbmessungen. Leipzig u. Wien 1936.

In analoger Weise ist im System der Internationalen Beleuchtungskommission:

$$\bar{x} : \bar{y} : \bar{z} = x : y : z, \tag{5}$$

worin $\bar{x}$, $\bar{y}$, $\bar{z}$ die Wirkungen der Grundreize und x, y, z deren Anteile bedeuten, also:

$$\left.\begin{aligned} x &= \frac{\bar{x}}{\bar{x}+\bar{y}+\bar{z}}, \\ y &= \frac{\bar{y}}{\bar{x}+\bar{y}+\bar{z}}, \\ z &= \frac{\bar{z}}{\bar{x}+\bar{y}+\bar{z}} \end{aligned}\right\} \tag{6}$$

womit, wie vorher:

$$x + y + z = 1. \tag{7}$$

Diese Anteile sind, wie bekannt, nichts anderes als die Dreieckskoordinaten des Farbortes im Farbendreieck.

Satz II. *Die Reste der Erregungen der Grundempfindungen stehen zueinander in derselben Proportion wie die Reste der Anteile.*

Von den drei Erregungen der Grundempfindungen ist eine bestimmt die kleinste: angenommen, es sei $\bar{g}$. Wenn wir diese von allen dreien subtrahieren, so bleiben drei Reste $\bar{r}_0$, $\bar{g}_0$, $\bar{b}_0$ übrig, von denen einer, hier $\bar{g}_0$, gleich Null ist.

Und wenn $\bar{g}$ die kleinste der drei Erregungen der Grundempfindungen ist, so ist auch g der kleinste der Anteile. Subtrahieren wir diesen von allen dreien, so bleiben nochmals drei Reste r_0, g_0, b_0 übrig, von denen g_0 wieder gleich Null ist.

Aus der ersten und der dritten der Proportionen (3) ergibt sich nun durch einen bekannten Satz:

$$\frac{r_0}{r} = \frac{\bar{r}_0}{\bar{r}}, \qquad \frac{b_0}{b} = \frac{\bar{b}_0}{\bar{b}} \tag{8}$$

oder:

$$\frac{r}{\bar{r}} = \frac{r_0}{\bar{r}_0}, \qquad \frac{b}{\bar{b}} = \frac{b_0}{\bar{b}_0}.$$

Aber die zweite der benannten Proportionen (3) besagt, daß:

$$\frac{r}{\bar{r}} = \frac{b}{\bar{b}}.$$

Somit ist auch:

$$\frac{r_0}{\bar{r}_0} = \frac{b_0}{\bar{b}_0} \tag{9}$$

oder:

$$r_0 : b_0 = \bar{r}_0 : \bar{b}_0,$$

ein Ausdruck, den wir, obwohl $\overline{g}_0 = g_0 = 0$ ist, ganz allgemein schreiben können:

$$\overline{r}_0 : \overline{g}_0 : \overline{b}_0 = r_0 : g_0 : b_0. \tag{10}$$

Im I.B.K.-System ist gleichfalls:

$$\overline{x}_0 : \overline{y}_0 : \overline{z}_0 = x_0 : y_0 : z_0, \tag{11}$$

worin x_0, y_0, z_0 und x_0, y_0, z_0 die Reste bedeuten, die erhalten werden, wenn die kleinste der Wirkungen der Grundreize, bzw. deren Anteile, von allen dreien subtrahiert wird.

Satz III. Die Proportionen (8), die man unter der Form

$$\frac{\overline{r}}{r} = \frac{\overline{r}_0}{r_0}, \qquad \frac{\overline{b}}{b} = \frac{\overline{b}_0}{b_0} \tag{12}$$

schreiben kann, zeigen, daß

die Erregungen der Grundempfindungen zu deren Anteilen in derselben Proportion stehen, wie die Reste der Erregungen zu den Resten der Anteile.

Ganz analog haben wir im I.B.K.-System, wenn y die kleinste der drei Wirkungen der Grundreize ist:

$$\frac{\overline{x}}{x} = \frac{\overline{x}_0}{x_0}, \qquad \frac{\overline{z}}{z} = \frac{\overline{z}_0}{z_0}. \tag{13}$$

D. h. *die Wirkungen der Grundreize verhalten sich zu deren Anteilen wie die Reste der Wirkungen zu den Resten der Anteile.*

Satz IV. *Die Anteile der Reste der Erregungen der Grundempfindungen sind den betreffenden Anteilen der Reste der Anteile gleich*, d. h.:

$$\left.\begin{aligned} \frac{\overline{r}_0}{\overline{r}_0 + \overline{g}_0 + \overline{b}_0} &= \frac{r_0}{r_0 + g_0 + b_0}, \\ \frac{\overline{g}_0}{\overline{r}_0 + \overline{g}_0 + \overline{b}_0} &= \frac{g_0}{r_0 + g_0 + b_0}, \\ \frac{\overline{b}_0}{\overline{r}_0 + \overline{g}_0 + \overline{b}_0} &= \frac{b_0}{r_0 + g_0 + b_0}. \end{aligned}\right\} \tag{14}$$

Wie schon gesagt, ist von den drei Resten der Erregungen der Grundempfindungen der eine gleich Null und dasselbe gilt für den Rest des betreffenden Anteiles. Angenommen, es sei $g_0 = g_0 = 0$. In diesem Falle reduzieren sich die obigen Gleichungen (14) zu den folgenden:

$$\frac{\overline{r}_0}{\overline{r}_0 + \overline{b}_0} = \frac{r_0}{r_0 + b_0},$$

$$\frac{\overline{b}_0}{\overline{r}_0 + \overline{b}_0} = \frac{b_0}{r_0 + b_0}$$

Aber dies folgt sofort durch einen bekannten Satz aus der Proportion (9), die man auf diese Weise schreiben kann:

$$\frac{\bar{r}_0}{\bar{b}_0} = \frac{r_0}{b_0}.$$

Ebenfalls haben wir im I.B.K.-System:

$$\left.\begin{aligned} \frac{\bar{x}_0}{\bar{x}_0+\bar{y}_0+\bar{z}_0} &= \frac{x_0}{x_0+y_0+z_0}, \\ \frac{\bar{y}_0}{\bar{x}_0+\bar{y}_0+\bar{z}_0} &= \frac{y_0}{x_0+y_0+z_0}, \\ \frac{\bar{z}_0}{\bar{x}_0+\bar{y}_0+\bar{z}_0} &= \frac{z_0}{x_0+y_0+z_0}. \end{aligned}\right\} \tag{15}$$

Sättigung. Die Sättigung einer Farbe wurde von *F. Exner*[1] definiert durch die Beziehung:

$$\sigma = \frac{f}{f+w}, \tag{16}$$

worin f den Gehalt an gesättigter Farbe und w den Gehalt an Weiß bedeutet.

Wenn C (Abb. 1) den Farbort im Farbendreieck und A den Punkt, wo die Gerade, vom Weißpunkt durch den Farbort gezogen, die Seite des Dreiecks trifft, darstellen, so haben wir nach der *Newton*schen Mischungsregel:

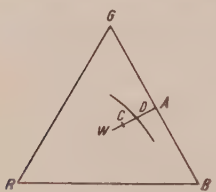


Abb. 1.

$$\frac{f}{w} = \frac{CW}{AC}.$$

Daraus folgt:

$$\frac{f}{f+w} = \sigma = \frac{CW}{AC+CW} = \frac{CW}{AW}. \tag{17}$$

Und wenn $\bar{r}$, $\bar{g}$, $\bar{b}$ die Erregungen der drei Grundempfindungen für die Beobachtung der genannten Farbe bezeichnen, so können wir die Gesamterregung $\bar{r}+g+b$, in C gelegt, als Mischung der Gesamterregung $\bar{r}_0+\bar{g}_0+\bar{b}_0$, in A gelegt, und der Gesamterregung $(\bar{r}-\bar{r}_0)+(\bar{g}-\bar{g}_0)+(b-\bar{b}_0)$, in W gelegt, auffassen. Die *Newton*sche Mischungsregel ergibt nun:

$$\frac{CW}{AC} = \frac{\bar{r}_0+\bar{g}_0+\bar{b}_0}{(\bar{r}-\bar{r}_0)+(\bar{g}-\bar{g}_0)+(\bar{b}-\bar{b}_0)}$$

und durch die obige Definition (17):

$$\sigma = \frac{CW}{AW} = \frac{CW}{AC+CW} = \frac{\bar{r}_0+\bar{g}_0+\bar{b}_0}{\bar{r}+\bar{g}+\bar{b}}. \tag{18}$$

[1] *F. Exner*, Vorlesungen über die physikalischen Grundlagen der Naturwissenschaften. 2. Aufl. Leipzig u. Wien 1922.

In gleicher Weise haben wir im I.B.K.-System:

$$\sigma = \frac{\bar{x}_0 + \bar{y}_0 + \bar{z}_0}{\bar{x} + \bar{y} + \bar{z}}. \tag{19}$$

Satz V. *Die Sättigung einer Farbe wird durch die Summe der Reste der Anteile der betreffenden Erregungen der Grundempfindungen gegeben.*

Aus den Proportionen (4) und (10) folgt, bzw.:

$$\frac{\bar{r} + \bar{g} + \bar{b}}{r + g + b} = \frac{\bar{r}}{r}$$

und

$$\frac{\bar{r}_0 + \bar{g}_0 + \bar{b}_0}{r_0 + g_0 + b_0} = \frac{\bar{r}_0}{r_0}.$$

Nun besagt die erste der Proportionen (12), daß:

$$\frac{\bar{r}}{r} = \frac{r_0}{r_0}$$

Also ist:

$$\frac{\bar{r}_0 + \bar{g}_0 + \bar{b}_0}{r_0 + g_0 + b_0} = \frac{\bar{r} + \bar{g} + \bar{b}}{r + g + b}$$

oder, wenn man Beziehung (2) in Betracht zieht:

$$\sigma = \frac{\bar{r}_0 + \bar{g}_0 + \bar{b}_0}{\bar{r} + \bar{g} + \bar{b}} = r_0 + g_0 + b_0. \tag{20}$$

Diese Gleichung kann man auf die folgende Weise schreiben:

$$\sigma = r + g + b - [(r - r_0) + (g - g_0) + (b - b_0)] = 1 - 3\,m, \tag{21}$$

worin m den kleinsten der drei Werte r, g, b bedeutet, nachdem die drei Werte $r - r_0$, $g - g_0$, $b - b_0$ untereinander und ebenfalls den kleinsten der drei Werte r, g, b gleich sind.

Im I.B.K.-System haben wir gleichfalls:

$$\sigma = \frac{\bar{x}_0 + \bar{y}_0 + \bar{z}_0}{\bar{x}_0 + \bar{y}_0 + \bar{z}_0} = x_0 + y_0 + z_0. \tag{22}$$

Da die Anteile der Wirkungen der Grundreize nichts anderes sind als die Dreieckskoordinate des Farbortes im Farbendreieck, so erhält man die Sättigung der Farbe, wenn man die kleinste dieser Koordinaten von allen dreien subtrahiert.

Farbton. In der Farbentheorie wird der Farbton durch eine Funktion Φ definiert, die man folgendermaßen bekommt. Man bildet die Brüche:

$$\frac{\bar{b}_0}{b_0 + r_0 + g_0}, \quad \frac{\bar{g}_0}{g_0 + b_0 + r_0}, \quad \frac{\bar{r}_0}{r_0 + g_0 + b_0}. \tag{23}$$

Da nun einer dieser Reste gleich Null ist, reduzieren sich die drei Brüche in Wirklichkeit auf zwei der Form:

$$\frac{\bar{\alpha}_0}{\alpha_0 + \beta_0}, \tag{24}$$

worin x_0 und β_0 ganz allgemein die zwei Reste, die nicht gleich Null sind, darstellen. Diese zwei Reste definieren eine Farbe, deren Ort sich an der Seite AB des Farbendreiecks befindet, die sich der Ecke Γ gegenüberstellt, die der Grundempfindung entspricht, für welche der Rest γ_0 gleich Null ist. Der Bruch (24), der den Anteil eines der Reste in der Summe der zwei bedeutet, vertritt also alle Zahlen, die zwischen Null und Eins eingeschlossen sind.

Wenn AB die Seiten RB, BG und GR (alle der Einheit gleich) des Farbendreiecks nacheinander darstellt, so wird der Bruch (24) durch eine Gerade wiedergegeben, die von 0 am Ursprung bis zu 1 am Ende der betreffenden Seite steigt. Addieren wir jetzt 1 zu den Werten des Bruches, der der Seite BG entspricht, so haben wir, wie in Abb. 2 ersichtlich, aus

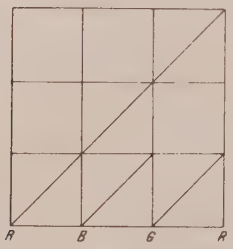


Abb. 2.

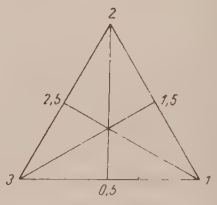


Abb. 3.

den drei Geraden eine einzige gebildet: diese Gerade, die alle Werte zwischen 0 und 3 vertritt, drückt geometrisch die Funktion Φ aus.

Von nun an kann die Funktion Φ den Farbton so genau wie die Wellenlänge definieren. Wie Abb. 3 zeigt, stellen die Zahlen 3, 2, 1 die Farbe der Grundempfindungen Rot, Grün und Blau dar und die Zahlen 2,5, 1,5, 0,5 die Farbe von deren Komplementärfarbe, also: Gelb (komplementär zu Blau), Grün-Blau (komplementär zu Rot) und Purpur (komplementär zu Grün).

Analytischer Ausdruck der Funktion Φ. Nach dem Gesagten wird die Funktion Φ analytisch durch die Gleichung ausgedrückt:

$$\Phi = \frac{\bar{\alpha}_0}{\bar{\alpha}_0 + \bar{\beta}_0 + \bar{\gamma}_0} + \varkappa. \tag{25}$$

Worin:

$$\begin{aligned} \varkappa = 0 \quad \text{für} \quad & \bar{\alpha}_0 = \bar{b}_0, \\ & \bar{\beta}_0 = \bar{r}_0; \\ \varkappa = 1 \quad & \bar{\alpha}_0 = \bar{g}_0, \\ & \bar{\beta}_0 = \bar{b}_0; \\ \varkappa = 2 \quad & \bar{\alpha}_0 = \bar{r}_0, \\ & \bar{\beta}_0 = \bar{g}_0. \end{aligned}$$

Durch den Satz IV [Formel (14)] ergibt sich nun:

$$\frac{\bar{\alpha}_0}{\alpha_0+\beta_0+\gamma_0} = \frac{\alpha_0}{\alpha_0+\beta_0+\gamma_0},$$

worin α_0, β_0, γ_0 ganz allgemein die Reste bedeuten, die erhalten werden, wenn man den kleinsten der Anteile der Erregungen der Grundempfindungen von allen dreien subtrahiert. Wir können also schreiben:

$$\Phi = \frac{\alpha_0}{\alpha_0+\beta_0+\gamma_0} + \varkappa. \tag{26}$$

Da aber nach dem Satz V [Formel (20)]:

$$\alpha_0+\beta_0+\gamma_0 = \sigma,$$

so haben wir endlich die Funktion Φ in der Form:

$$\Phi = \frac{\bar{\alpha}_0}{\sigma} + \varkappa, \tag{27}$$

worin α_0 den ersten von zwei nacheinanderfolgenden Resten bedeutet, die nicht gleich Null sind, wenn diese nach folgender Reihe geschrieben werden:

1	r_0,
2	g_0,
3	b_0,
1	r_0.

Im I.B.K.-System wird gleichfalls eine Funktion F definiert, die analytisch durch die Gleichung ausgedrückt werden kann:

$$F = \frac{\bar{a}_0}{\bar{a}_0+\bar{b}_0+\bar{c}_0} + k, \tag{28}$$

worin:

$k = 0$ für $\bar{a}_0 = \bar{z}_0$,
$\bar{b}_0 = \bar{x}_0$;
$k = 1$ $\bar{a}_0 = \bar{y}_0$,
$\bar{b}_0 = \bar{z}_0$;
$k = 2$ $\bar{a}_0 = \bar{x}_0$,
$\bar{b}_0 = y_0$.

Der Satz IV [Formel (15)] besagt aber, daß:

$$\frac{\bar{a}_0}{\bar{a}_0+\bar{b}_0+\bar{c}_0} = \frac{a_0}{a_0+b_0+c_0},$$

worin a_0, b_0, c_0 ganz allgemein die Reste bedeuten, die erhalten werden, wenn der kleinste der Anteile der Wirkungen der Grundreize (also die kleinste der Dreieckskoordinaten) von allen dreien subtrahiert wird.

Da nun aus dem Satz V [Formel (22)] sich ergibt:

$$a_0 + b_0 + c_0 = \sigma,$$

so bekommen wir gleichfalls die Funktion F in der Form:

$$F = \frac{a_0}{\sigma} + k, \tag{29}$$

worin a_0 den ersten Rest bedeutet von zwei nacheinanderfolgenden, die nicht gleich Null sind, wenn diese Reste in die Reihenfolge gestellt werden:

1	x_0,
2	y_0,
3	z_0,
1	x_0.

Zusammenfassung.

Es werden fünf Sätze zur *Young-Helmholtz*schen Farbentheorie aufgestellt und erläutert, wovon Formeln für Sättigung σ und Farbton Φ (oder F im System der Internationalen Beleuchtungskommission) abgeleitet werden.

Aus dem gerichtl.-medizin. Institut der Universität Lissabon, chem. Abteilung.

Experimentelle Grundlage zur Bestimmung des Wasserstoffions durch Farbanalyse.*

Von

A. G. de Almeida.

(Eingelangt am 28. April 1938.)

Zweck dieser Arbeit ist, eine experimentelle Grundlage zur Messung des Wasserstoffions festzustellen, so daß man, wenn man eine Lösung unbekannten p_H-Wertes mit einem bestimmten Indikator versetzt und die entstandene Farbe nach Farbton und Sättigung durch Farbanalyse nachher bestimmt, den p_H-Wert der Lösung finden kann.

Die Anregung dazu habe ich während eines kurzen Aufenthaltes im Jahre 1934[1] im II. physikalischen Institut der Universität Wien bekommen, wofür ich den Herren Prof. Dr. *Ed. Haschek* und Oberst *M. Haitinger* hier meinen besten Dank aussprechen will.

Die Indikatoren, die ich benützt habe, sind die Originalindikatoren von *W. M. Clark* und *H. A. Lubs*,[2] welche eine der gebräuchlichsten Indikatorenreihen bilden, also:

Bromphenolblau, Bromkresolpurpur, Bromthymolblau, Phenolrot, Kresolrot, Thymolblau.

Das Umschlagsgebiet jedes dieser Indikatoren umfaßt 1,6 p_H; demnach habe ich für jeden mit Hilfe des Acetat-Veronal-Puffers von *L. Michaelis*[3] eine Reihe von neun Pufferlösungen hergestellt, was dem p_H-Intervall 0,2 entspricht; jeder Lösung gab ich den betreffenden Indikator zu, und zwar in der Proportion von 12 Tropfen der 0,04%igen alkoholischen Indikator-

* Diese Arbeit war ebenso wie die vorhergehende für den 25. Band der „Mikrochemie" bestimmt, kann jedoch aus technischen Gründen erst im vorliegenden Heft veröffentlicht werden. Sie wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

[1] Die Arbeit wurde schon 1935 (2. Aufl. 1938) in portugiesischer Sprache unter dem Titel „Determinação fotométrica da concentração hidrogeniónica" in Lissabon veröffentlicht.

[2] *W. M. Clark*, The determination of Hydrogen Ions. 3. Aufl., S. 91—95. London 1928.

[3] *L. Michaelis*, Biochem. Ztschr. **234**, 139 (1931).

lösung zu 25 ccm der Pufferlösung, und bestimmte die Farbe der entstandenen Mischung photometrisch durch das analytische Verfahren.[1]

Als Meßapparates bediente ich mich des Photometers von *C. Pulfrich*, unter Anwendung einer Barytweißplatte als Normale, die in einem Zusatz montiert war, der im II. physikalischen Institut der Universität Wien benützt wird und in dieser Zeitschrift schon abgebildet worden ist.[2]

Die Normale und ebenso die zu prüfenden Lösungen wurden mit Niedervoltlämpchen beleuchtet und die Lichtbündel derselben, durch eine Linse parallelgerichtet, passierten einen Tageslichtfilter. Diese Lämpchen wurden durch eine Batterie von Akkumulatoren gespeist; das die Normale beleuchtende Lämpchen war in den Stromkreislauf der Batterie eingeschaltet und das andere, die Lösung beleuchtende Lämpchen in eine Ableitung, die ebenso einen regulierbaren Widerstand und ein Milliampèremeter umschloß.

Vor jeder Messung wurde in den Trogbehälter ein Trog mit destilliertem Wasser gesteckt und der Widerstand so reguliert, daß beide Hälften des Gesichtsfeldes des Okulars unter Beleuchtung gleicher Intensität erschienen. Nun wurde dieser Trog durch den anderen, mit der zu untersuchenden Lösung gefüllten ersetzt und sodann die Ablesung vollzogen.

Die Ablesungen, die in den Tabellen I bis VI registriert sind, stellen immer den Mittelwert aus vielen Beobachtungen dar.

Aus diesen Ablesungen lassen sich die Erregungen der Grundempfindungen durch die Formel berechnen:[1]

$$\overline{r} = l_1 \overline{r}_1 + l_2 \overline{r}_2 + l_3 \overline{r}_3,$$
$$\overline{g} = l_1 \overline{g}_1 + l_2 \overline{g}_2 + l_3 \overline{g}_3,$$
$$\overline{b} = l_1 \overline{b}_1 + l_2 \overline{b}_2 + l_3 \overline{b}_3,$$

worin $\overline{r}_1, \overline{g}_1, \overline{b}_1$; $\overline{r}_2, \overline{g}_2, \overline{b}_2$; $\overline{r}_3, \overline{g}_3, \overline{b}_3$ bzw. die Konstanten des roten, des grünen und des blauen Filters und l_1, l_2, l_3 die Ablesungen unter denselben Filtern bedeuten.

Die Anteile der Erregungen werden selbstverständlich durch folgende Brüche gegeben:

$$r = \frac{\overline{r}}{\overline{r} + \overline{g} + \overline{b}},$$

$$g = \frac{\overline{g}}{\overline{r} + \overline{g} + \overline{b}},$$

$$b = \frac{\overline{b}}{\overline{r} + \overline{g} + \overline{b}}.$$

---

[1] *E. Haschek* und *M. Haitinger*, Farbmessungen. Wien u. Leipzig 1936.
[2] *M. Haitinger*, Mikrochemie **9**, 441 (1931).

Tabelle I. Bromphenolblau.

Laufzahl	p_H	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ξ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion Φ	Sättigung σ	Helligkeit h
1	3,0	l_1 0,948	$\overline{r}$ 105,06	r 0,4558					
		l_2 0,745	$\overline{g}$ 101,18	g 0,4390	0,3247	0,3802	2,5123	0,6844	182,13
		l_3 0,140	$\overline{b}$ 24,26	b 0,1052					
2	3,2	l_1 0,942	$\overline{r}$ 102,29	r 0,4544					
		l_2 0,703	$\overline{g}$ 96,83	g 0,4301	0,3305	0,3725	2,5186	0,6535	176,12
		l_3 0,155	$\overline{b}$ 26,00	b 0,1155					
3	3,4	l_1 0,928	$\overline{r}$ 99,08	r 0,4515					
		l_2 0,662	$\overline{g}$ 92,36	g 0,4209	0,3381	0,3645	2,5248	0,6170	169,58
		l_3 0,172	$\overline{b}$ 28,02	b 0,1277					
4	3,6	l_1 0,740	$\overline{r}$ 78,93	r 0,4361					
		l_2 0,522	$\overline{g}$ 73,11	g 0,4040	0,3619	0,3499	2,5308	0,5203	134,89
		l_3 0,186	$\overline{b}$ 28,93	b 0,1599					
5	3,8	l_1 0,685	$\overline{r}$ 67,71	r 0,4249					
		l_2 0,387	$\overline{g}$ 58,11	g 0,3646	0,3928	0,3157	2,5818	0,3685	112,45
		l_3 0,227	$\overline{b}$ 33,55	b 0,2105					
6	4,0	l_1 0,498	$\overline{r}$ 43,10	r 0,3978					
		l_2 0,170	$\overline{g}$ 31,19	g 0,2879	0,4582	0,2493	0,1937	0,1363	67,50
		l_3 0,242	$\overline{b}$ 34,05	b 0,3143					
7	4,2	l_1 0,443	$\overline{r}$ 36,58	r 0,3763					
		l_2 0,117	$\overline{g}$ 24,36	g 0,2506	0,4983	0,2170	0,4933	0,2487	55,87
		l_3 0,261	$\overline{b}$ 36,26	b 0,3730					
8	4,4	l_1 0,413	$\overline{r}$ 34,20	r 0,3374					
		l_2 0,103	$\overline{g}$ 22,19	g 0,2189	0,5531	0,1896	0,6548	0,3433	52,06
		l_3 0,326	$\overline{b}$ 44,98	b 0,4437					
9	4,6	l_1 0,394	$\overline{r}$ 31,65	r 0,3201					
		l_2 0,078	$\overline{g}$ 19,18	g 0,1940	0,5830	0,1680	0,6984	0,4181	47,30
		l_3 0,350	$\overline{b}$ 48,06	b 0,4860					

Tabelle II. Bromkresolpurpur.

Laufzahl	PH	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ζ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion Φ	Sättigung σ	Helligkeit h
10	5,2	l_1 0,789	$\bar{r}$ 88,63	r 0,4422					
		l_2 0,658	g 88,03	g 0,4392	0,3382	0,3803	2,5023	0,6442	155,75
		l_3 0,141	$\bar{b}$ 23,78	b 0,1186					
11	5,4	l_1 0,736	$\bar{r}$ 85,14	r 0,4340					
		l_2 0,634	$\bar{g}$ 84,17	g 0,4290	0,3515	0,3715	2,5042	0,5890	149,42
		l_3 0,165	$\bar{b}$ 26,87	b 0,1370					
12	5,6	l_1 0,683	$\bar{r}$ 80,14	r 0,4248					
		l_2 0,605	$\bar{g}$ 79,80	g 0,4230	0,3636	0,3663	2,5016	0,5436	141,16
		l_3 0,180	$\bar{b}$ 28,70	b 0,1521					
13	5,8	l_1 0,645	$\bar{r}$ 76,81	r 0,4157					
		l_2 0,588	$\bar{g}$ 77,06	g 0,4171	0,3756	0,3612	2,4986	0,4986	135,81
		l_3 0,197	$\bar{b}$ 30,88	b 0,1671					
14	6,0	l_1 0,601	$\bar{r}$ 68,13	r 0,4112					
		l_2 0,487	$\bar{g}$ 65,74	g 0,3968	0,3903	0,3436	2,5170	0,4242	118,59
		l_3 0,209	$\bar{b}$ 31,80	b 0,1919					
15	6,2	l_1 0,568	$\bar{r}$ 63,70	r 0,4029					
		l_2 0,446	$\bar{g}$ 60,73	g 0,3841	0,4050	0,3326	2,5260	0,3610	110,42
		l_3 0,225	$\bar{b}$ 33,68	b 0,2130					
16	6,4	l_1 0,522	$\bar{r}$ 60,07	r 0,3876					
		l_2 0,432	$\bar{g}$ 58,06	g 0,3747	0,4250	0,3245	2,5223	0,2869	104,85
		l_3 0,249	$\bar{b}$ 36,84	b 0,2377					
17	6,6	l_1 0,464	$\bar{r}$ 51,93	r 0,3732					
		l_2 0,355	$\bar{g}$ 48,76	g 0,3504	0,4515	0,3034	2,5667	0,1710	89,72
		l_3 0,265	$\bar{b}$ 38,47	b 0,2763					
18	6,8	l_1 0,422	$\bar{r}$ 47,32	r 0,3568					
		l_2 0,320	$\bar{g}$ 44,10	g 0,3325	0,4769	0,2879	2,6789	0,0679	81,65
		l_3 0,287	$\bar{b}$ 41,21	b 0,3107					

Tabelle III. Bromthymolblau.

Laufzahl	p_H	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ζ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion Φ	Sättigung σ	Helligkeit h
19	6,0	l_1 0,967	$\bar{r}$ 112,45	r 0,4063					
		l_2 0,830	$\bar{g}$ 110,43	g 0,3990	0,3942	0,3455	2,5088	0,4159	197,23
		l_3 0,354	$\bar{b}$ 53,90	b 0,1947					
20	6,2	l_1 0,858	$\bar{r}$ 103,72	r 0,3945					
		l_2 0,799	$\bar{g}$ 104,29	g 0,3967	0,4071	0,3435	2,4971	0,3736	183,88
		l_3 0,363	$\bar{b}$ 54,89	b 0,2088					
21	6,4	l_1 0,762	$\bar{r}$ 95,26	r 0,3819					
		l_2 0,758	$\bar{g}$ 97,51	g 0,3910	0,4226	0,3386	2,4857	0,3187	170,34
		l_3 0,378	$\bar{b}$ 56,64	b 0,2271					
22	6,6	l_1 0,683	$\bar{r}$ 88,02	r 0,3721					
		l_2 0,720	$\bar{g}$ 91,51	g 0,3868	0,4345	0,3350	2,4734	0,2767	158,57
		l_3 0,383	$\bar{b}$ 57,05	b 0,2411					
23	6,8	l_1 0,633	$\bar{r}$ 82,26	r 0,3633					
		l_2 0,682	$\bar{g}$ 86,32	g 0,3794	0,4470	0,3286	2,4647	0,2281	149,32
		l_3 0,396	$\bar{b}$ 58,54	b 0,2573					
24	7,0	l_1 0,589	$\bar{r}$ 77,28	r 0,3547					
		l_2 0,637	$\bar{g}$ 80,60	g 0,3699	0,4602	0,3203	2,4563	0,1740	139,65
		l_3 0,409	$\bar{b}$ 59,99	b 0,2753					
25	7,2	l_1 0,487	$\bar{r}$ 65,06	r 0,3362					
		l_2 0,539	$\bar{g}$ 67,95	g 0,3511	0,4882	0,3041	2,3796	0,0619	117,88
		l_3 0,418	$\bar{b}$ 60,52	b 0,3127					
26	7,4	l_1 0,318	$\bar{r}$ 47,68	r 0,2947					
		l_2 0,425	$\bar{g}$ 51,84	g 0,3204	0,5452	0,2775	1,2216	0,1160	88,37
		l_3 0,437	$\bar{b}$ 62,29	b 0,3850					
27	7,6	l_1 0,238	$\bar{r}$ 37,26	r 0,2490					
		l_2 0,327	$\bar{g}$ 39,88	g 0,2663	0,6179	0,2306	1,0684	0,2531	69,15
		l_3 0,518	$\bar{b}$ 72,59	b 0,4848					

Tabelle IV. Phenolrot.

Laufzahl	pH	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ζ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion ψ	Sättigung σ	Helligkeit h
28	6,8	l_1 0,903	$\bar{r}$ 107,44	r 0,4524					
		l_2 0,837	$\bar{g}$ 109,09	g 0,4593	0,3179	0,3978	2,4953	0,7351	190,42
		l_3 0,111	$\bar{b}$ 20,97	b 0,0883					
29	7,0	l_1 0,883	$\bar{r}$ 97,55	r 0,4568					
		l_2 0,689	$\bar{g}$ 93,75	g 0,4390	0,3236	0,3802	2,5129	0,6876	168,96
		l_3 0,128	$\bar{b}$ 22,23	b 0,1541					
30	7,2	l_1 0,833	$\bar{r}$ 77,48	r 0,4728					
		l_2 0,400	$\bar{g}$ 63,47	g 0,3873	0,3335	0,3354	2,5737	0,5803	126,01
		l_3 0,148	$\bar{b}$ 22,93	b 0,1399					
31	7,4	l_1 0,788	$\bar{r}$ 60,92	r 0,4905					
		l_2 0,165	$\bar{g}$ 38,74	g 0,3119	0,3524	0,2701	2,7192	0,4074	90,80
		l_3 0,172	$\bar{b}$ 24,53	b 0,1975					
32	7,6	l_1 0,738	$\bar{r}$ 50,39	r 0,5018					
		l_2 0,039	$\bar{g}$ 24,75	g 0,2465	0,3749	0,2135	0,0200	0,2605	69,71
		l_3 0,184	$\bar{b}$ 25,28	b 0,2517					
33	7,8	k_1 0,833	$\bar{r}$ 38,93	r 0,4997					
		l_2 0,013	$\bar{g}$ 11,75	g 0,1508	0,4249	0,1306	0,3629	0,5476	48,17
		l_3 0,200	$\bar{b}$ 27,23	b 0,3495					
34	8,0	k_1 0,790	$\bar{r}$ 36,66	r 0,4762					
		l_2 0,005	$\bar{g}$ 10,44	g 0,1356	0,4560	0,1174	0,4258	0,5932	45,27
		l_3 0,220	$\bar{b}$ 29,89	b 0,3882					
35	8,2	k_1 0,748	$\bar{r}$ 34,69	r 0,4559					
		l_2 0,002	$\bar{g}$ 9,63	g 0,1266	0,4808	0,1096	0,4690	0,6202	42,73
		l_3 0,234	$\bar{b}$ 31,77	b 0,4175					
36	8,4	k_1 0,713	$\bar{r}$ 33,17	r 0,4344					
		l_2 0,001	$\bar{g}$ 9,12	g 0,1194	0,5059	0,1034	0,5092	0,6418	40,88
		l_3 0,251	$\bar{b}$ 34,07	b 0,4462					

Tabelle V. Kresolrot.

Laufzahl	PH	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ζ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion φ	Sättigung σ	Helligkeit h
37	7,2	l_1 0,936	$\overline{r}$ 96,98	r 0,4749					
		l_2 0,624	$\overline{g}$ 88,71	g 0,4344	0,3079	0,3762	2,5278	0,7279	164,49
		l_3 0,104	$\overline{b}$ 18,53	b 0,0907					
38	7,4	l_1 0,865	$\overline{r}$ 84,28	r 0,4787					
		l_2 0,484	$\overline{g}$ 72,73	g 0,4131	0,3147	0,3577	2,5486	0,6754	139,72
		l_3 0,115	$\overline{b}$ 19,04	b 0,1082					
39	7,6	l_1 0,744	$\overline{r}$ 59,53	r 0,5010					
		l_2 0,193	$\overline{g}$ 40,26	g 0,3388	0,3296	0,2634	2,6561	0,5194	90,42
		l_3 0,130	$\overline{b}$ 19,03	b 0,1602					
40	7,8	l_1 0,657	$\overline{r}$ 48,65	r 0,5051					
		l_2 0,102	$\overline{g}$ 28,73	g 0,2983	0,3457	0,2583	2,7521	0,4102	70,82
		l_3 0,134	$\overline{b}$ 18,93	b 0,1966					
41	8,0	k_1 0,918	$\overline{r}$ 44,62	r 0,5366					
		l_2 0,049	$\overline{g}$ 16,35	g 0,1966	0,3651	0,1703	0,1711	0,4102	57,51
		l_3 0,161	$\overline{b}$ 22,19	b 0,2668					
42	8,2	k_1 0,860	$\overline{r}$ 40,75	r 0,5114					
		l_2 0,025	$\overline{g}$ 13,27	g 0,1664	0,4054	0,1441	0,3111	0,5008	51,42
		l_3 0,188	$\overline{b}$ 25,69	b 0,3222					
43	8,4	k_1 0,806	$\overline{r}$ 38,32	r 0,4911					
		l_2 0,023	$\overline{g}$ 12,41	g 0,1590	0,4294	0,1377	0,3650	0,5230	48,36
		l_3 0,200	$\overline{b}$ 27,30	b 0,3499					
44	8,6	k_1 0,778	$\overline{r}$ 36,65	r 0,4719					
		l_2 0,014	$\overline{g}$ 11,19	g 0,1441	0,4560	0,1248	0,4226	0,5677	45,83
		l_3 0,219	$\overline{b}$ 29,82	b 0,3840					
45	8,8	k_1 0,747	$\overline{r}$ 34,99	r 0,4551					
		l_2 0,008	$\overline{g}$ 10,22	g 0,1329	0,4783	0,1151	0,4641	0,6012	43,48
		l_3 0,233	$\overline{b}$ 31,67	b 0,4119					

Tabelle VI. Thymolblau.

Laufzahl	pH	Photometrische Ablesungen	Erregungen der Grundempfindungen	Anteile der Erregungen	Koordinate im Farbendreieck ζ	Koordinate im Farbendreieck η	Funktion Φ	Sättigung σ	Helligkeit h
46	8,0	l_1 0,712	$\bar{r}$ 81,92	r 0,4230					
		l_2 0,602	$\bar{g}$ 80,34	g 0,4149	0,3695	0,3593	2,5079	0,5137	143,41
		l_3 0,200	$\bar{b}$ 31,39	b 0,1621					
47	8,2	l_1 0,579	$\bar{r}$ 67,67	r 0,4032					
		l_2 0,502	$\bar{g}$ 66,63	g 0,3970	0,3983	0,3438	2,5077	0,4006	118,85
		l_3 0,221	$\bar{b}$ 33,53	b 0,1998					
48	8,4	l_1 0,510	$\bar{r}$ 60,34	r 0,3833					
		l_2 0,449	$\bar{g}$ 59,43	g 0,3775	0,4278	0,3269	2,5103	0,2826	106,17
		l_3 0,254	$\bar{b}$ 37,64	b 0,2391					
49	8,6	l_1 0,367	$\bar{r}$ 44,00	r 0,3417					
		l_2 0,338	$\bar{g}$ 44,37	g 0,3376	0,4895	0,2924	2,5541	0,0379	74,96
		l_3 0,293	$\bar{b}$ 42,14	b 0,3207					
50	8,8	l_1 0,350	$\bar{r}$ 38,76	r 0,3317					
		l_2 0,251	$\bar{g}$ 35,20	g 0,3012	0,5177	0,2608	0,6836	0,0964	66,40
		l_3 0,303	$\bar{b}$ 42,89	b 0,3671					
51	9,0	l_1 0,320	$\bar{r}$ 33,49	r 0,3158					
		l_2 0,193	$\bar{g}$ 28,57	g 0,2694	0,5494	0,2333	0,7579	0,1917	56,14
		l_3 0,314	$\bar{b}$ 43,98	b 0,4147					
52	9,2	l_1 0,297	$\bar{r}$ 30,54	r 0,2990					
		l_2 0,166	$\bar{g}$ 25,25	g 0,2472	0,5774	0,2141	0,7995	0,2584	50,74
		l_3 0,333	$\bar{b}$ 36,36	b 0,4548					
53	9,4	l_1 0,258	$\bar{r}$ 25,57	r 0,2646					
		l_2 0,120	g 19,60	g 0,2028	0,6340	0,1756	0,8422	0,3916	41,62
		l_3 0,373	$\bar{b}$ 51,47	b 0,5326					
54	9,6	l_1 0,239	$\bar{r}$ 22,77	r 0,2407					
		l_2 0,090	$\bar{g}$ 16,10	g 0,1702	0,6743	0,1474	0,8560	0,4895	36,28
		l_3 0,406	$\bar{b}$ 55,74	b 0,5892					

Aus diesen Anteilen erhält man die Koordinaten des Farbortes im Farbendreieck, und zwar durch die Formel:

$$\zeta = \frac{g}{2} + b,$$

$$\eta = \frac{g}{2}\sqrt{3}.$$

Was die drei eigentlichen Bestimmungsstücke der Farbe betrifft, werden sie folgendermaßen erhalten. Die Helligkeit h läßt sich nach *Exner* durch folgende Gleichung ausdrücken:

$$h = \bar{r} + \frac{3}{4}\bar{g} + \frac{1}{40}\bar{b}.$$

Die Sättigung σ wird durch die Summe der Reste gegeben, die man erhält, wenn der kleinste der drei Anteile der Erregungen der Grundempfindungen von allen drei subtrahiert wird, also

$$\sigma = r_0 + g_0 + b_0,^1$$

wobei einer der Reste selbstverständlich gleich Null ist.

Endlich wird der Farbton Φ durch die Gleichung:

$$\Phi = \frac{\alpha_0}{\sigma} + \varkappa^1$$

erhalten, worin α_0 den ersten von zwei nacheinanderfolgenden Resten bedeutet, die nicht gleich Null sind, wenn diese Reste in die Reihenfolge gestellt werden:

1	r_0,
2	g_0,
3	b_0,
1	r_0

und $\varkappa$ die ganze Zahl bedeutet, die den Index von α_0 auf 3 ergänzt.

Führt man jetzt im Farbendreieck die Koordinate jedes Punktes ein, so erhält man für jeden Indikator eine charakteristische Kurve, wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, wobei sich die unteren Zweige der Kurven des Phenolrots und des Kresolrots auf die Bestimmungen mit dem Filter K_1 und die oberen auf die Bestimmungen mit dem Filter L_1 beziehen.

Wenn man nun auf einer von zwei rechtwinkligen Koordinatenachsen die p_H-Werte und auf der anderen die betreffenden Werte der Funktion Φ aufzeichnet, so bekommt man für jeden Indikator eine Kurve, deren Zug sich S-förmig gestaltet, wie aus den Abb. 2 bis 7 ersichtlich.

---

[1] *A. G. de Almeida*, vgl. die vorhergehende Abhandlung, S. 5, 7.

Diese Abbildungen zeigen, daß alle Indikatoren dieser Indikatorenreihe mit Ausnahme des Bromthymolblaus von Gelb in Purpur umschlagen; Bromthymolblau schlägt von Gelb in Blau um.

Wie aus den Tabellen ersichtlich, entspricht dem Farbtonunterschied von $\Phi = 0{,}0006$ (ungefähr äquivalent einem Wellenlängenunterschied von 1 Å-Einheit) mindestens in den vorteilhaftesten Zonen der Umschlaggebiete ein Unterschied des p_H-Wertes von 0,002 bis 0,004, was eine Ge-

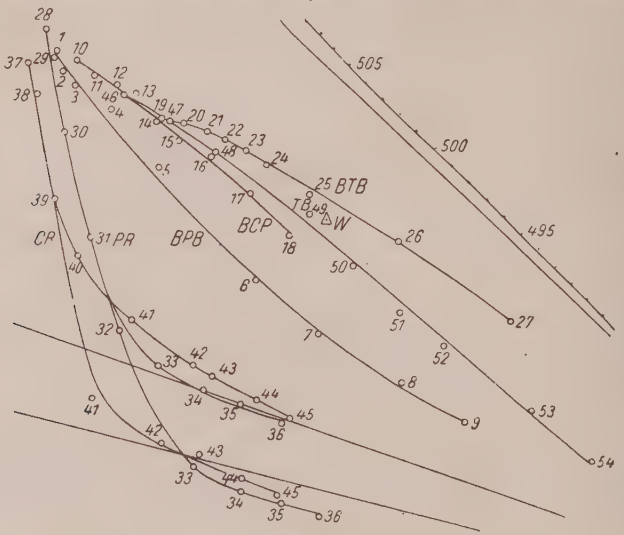


Abb. 1.

nauigkeit darstellt, die diejenige der viel schwierigeren und zeitraubenderen elektrometrischen Methode zur Messung des Wasserstoffions weit übertrifft.

Schließlich sei im folgenden die Gleichung der Kurven der Abb. 2 bis 7 abgeleitet.

Wir bezeichnen durch HT_1 und HT_2 die zwei tautomeren Formen des Indikators und nehmen an, daß die zweite sich als Säure ionisiert:

$$HT_1 \rightleftarrows HT_2 \rightleftarrows \overset{+}{H} + \overset{-}{T}_2.$$

Das Gleichgewicht der Tautomeren wird durch die Gleichung dargestellt:

$$\frac{[HT_2]}{[HT_1]} = K_T,$$

und das der Säure HT_2 mit ihren Ionen durch die Gleichung:

$$\frac{[\overset{+}{H}][\overset{-}{T}_2]}{[HT_2]} = K_A.$$

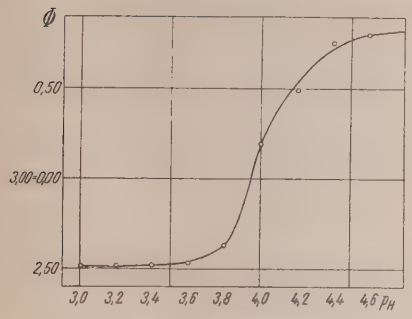


Abb. 2. Bromphenolblau.

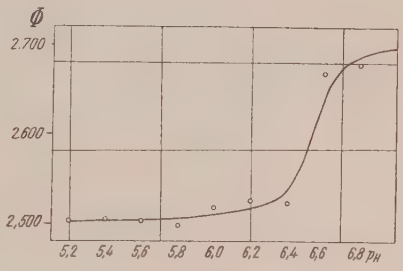


Abb. 3. Bromkresolpurpur.

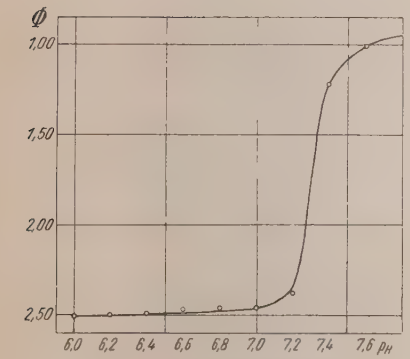


Abb. 4. Bromthymolblau.

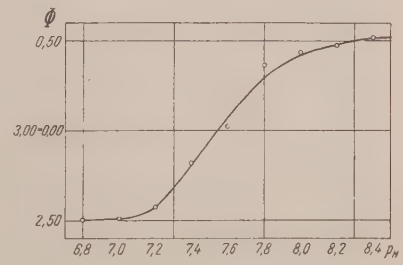


Abb. 5. Phenolrot.

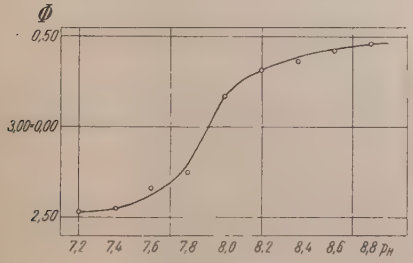


Abb. 6. Kresolrot.

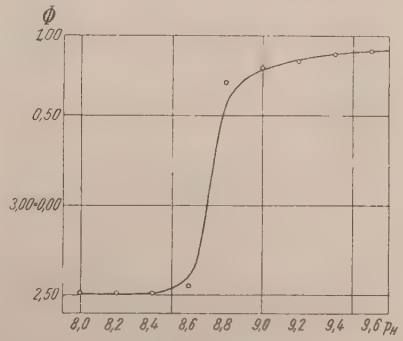


Abb. 7. Thymolblau.

Die Multiplikation der beiden Gleichungen ergibt:

$$\frac{[\overset{+}{H}]\,[\overset{-}{T_2}]}{[HT_1]} = K_T K_A = K_A'.$$

Daraus folgt:

$$[\overset{+}{H}] = K_A' \frac{[HT_1]}{[\overset{-}{T_2}]}$$

und

$$\frac{1}{[\overset{+}{H}]} = \frac{1}{K_A'} \cdot \frac{[\overset{-}{T_2}]}{[HT_1]}.$$

Wenn wir die Logarithmen nehmen, so erhalten wir:

$$p_H = p_{K'A} + \log \frac{[\overset{-}{T_2}]}{[HT_1]}.$$

Wenn nun Φ_1 den Wert der Funktion Φ für die Moleküle des Tautomeren HT_1 bezeichnet und Φ_2 den entsprechenden Wert für die Anionen $\overline{T_2}$, wird man den ersten Wert bekommen, wenn nur die Form HT_1 vorliegt, und den zweiten, wenn die Form HT_2 vollkommen in ihre Ionen gespalten ebenso allein vorliegt. Für jeden zwischenliegenden Fall, wenn Φ den betreffenden Farbton bezeichnet, gibt uns der Unterschied $\Phi - \Phi_1$ ein Maß der Konzentration der Anionen $\overline{T_2}$, weil dieser Unterschied um so größer ist, je mehr das Gleichgewicht im Sinne der obigen Reaktionsgleichung von links nach rechts verschoben ist, und ebenso ergibt uns der Unterschied $\Phi_2 - \Phi$ ein Maß für die Konzentration der Form HT_1, weil dieser Unterschied auch um so größer ist, je mehr das bezeichnete Gleichgewicht im Sinne der Reaktionsgleichung von rechts nach links verschoben ist.

Demnach können wir schreiben:

$$\frac{[\overset{-}{T_2}]}{[HT_1]} = \frac{\Phi - \Phi_1}{\Phi_2 - \Phi}$$

und infolgedessen

$$p_H = p_{K'A} + \log \frac{\Phi - \Phi_1}{\Phi_2 - \Phi}.$$

Diese Gleichung gehört zu einer logarithmischen Kurve, deren Wendepunkt der Bedingung entspricht:

$$\Phi - \Phi_1 = \Phi_2 - \Phi,$$

woraus folgt:

$$\Phi = \frac{\Phi_1 + \Phi_2}{2}.$$

In diesem Punkte ist:

$$p_H = p_{K'_A},$$

d. h. die Wasserstoffionenkonzentration ist der scheinbaren Ionisationskonstante des Indikators gleich.

Ganz analog würden wir, wenn wir anstatt der Funktion Φ die Wellenlänge λ als Ordinate der Kurven angenommen hätten, folgende Gleichung erhalten:

$$p_H = p_{K'_A} + \log \frac{\lambda - \lambda_1}{\lambda_2 - \lambda},$$

worin λ_1 dem Tautomeren HT_1 und λ_2 den Anionen $\overline{T_2}$ entspricht.

Zusammenfassung.

Es wurde eine experimentelle Grundlage zur farbanalytischen Bestimmung des Wasserstoffions folgendermaßen aufgestellt:

Mit Hilfe des Veronal-Acetat-Puffers von *L. Michaelis* wurde eine Reihe von Pufferlösungen dargestellt, entsprechend den Umschlaggebieten der Originalindikatoren von *W. M. Clark* und *H. A. Lubs* (Bromphenolblau, Bromkresolpurpur, Bromthymolblau, Phenolrot, Kresolrot und Thymolblau). Jede Lösung wurde mit dem betreffenden Indikator versetzt und die entstandene Farbe unter drei Farbfiltern (Rot, Grün, Blau) und unter Anwendung einer Barytweißplatte als Normale mit dem Stufenphotometer von *C. Pulfrich* nach der Methode von *E. Haschek* und *M. Haitinger* photometriert. Die Bestimmungsstücke jeder Farbe sind mit Hilfe der Formeln von *A. G. de Almeida* (für Sättigung und Farbton) und *F. Exner* (für Helligkeit) berechnet worden. Dann wurden für jeden Indikator die p_H-Werte als Abszisse und die Farbtonwerte als Ordinate in einem System von zwei rechtwinkligen Achsen aufgetragen und die Resultate ergaben S-förmige Kurven, deren Gleichung abgeleitet wurde.

Die Resultate zeigen, daß dem Farbtonunterschiede von $\Phi = 0{,}0006$ (ungefähr äquivalent 1 Å-Einheit) ein p_H-Unterschied von 2 bis 4 Tausendsteln entspricht, was eine Genauigkeit darstellt, die mit der elektrometrischen Methode nicht erreichbar ist.

Contribution from the Chemical Laboratories of New York University

A Micro Titrimetric Dry Combustion Method for Carbon

II.

A Modified Titration Vessel

By

R. H. Nagel[1]

(Eingelangt am 11. Mai 1938.)

The work of *Schmitt* and *Niederl*[2] has demonstrated the feasibility of combining *Lindner*'s titrimetric method[3] for the determination of carbon with the method of *Niederl* and *Roth*[4] for the dry combustion of organic compounds. The titration vessel described in the preceding publication has now been modified in the interest of greater practicability and rapidity. Using the modified vessel described below, the average time required for a determination has not only been decreased, but the manipulation has also been facilitated.

The dimensions of the new absorption vessel are in general those of the original design.[2] Due to the addition of the stopcock, the over-all length of the vessel has become 185 mm. The narrow cylindrical portion above the stopcock has an outer diameter of 13 mm. and a length of 65 mm. The inlet tube *c* (Fig. 1) is made 135 mm. long and has an inner diameter of 2 mm. The spiral *d* which now has 7 coils 10 mm. apart, fits snugly both the inlet tube and the wall of the titration vessel, and extends to a point 10 mm. above the ground glass stopcock. The rubber stopper *i* is given a fifth hole which accomodates a dropping funnel *n*. The buret tips consist of very fine capillaries made to deliver drops of 0,015 ml.;

[1] Taken from a portion of the Thesis presented by *Richard H. Nagel* to the Faculty of the Graduate School, New York University, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. This research was carried out under the joint direction of Professors *R. B. Schmitt* of Loyola College, Baltimore, Md., and *J. B. Niederl* of New York University, New York, N. Y.

[2] *R. B. Schmitt* and *J. B. Niederl*, Mikrochemie **24**, 59 (1938).

[3] *J. Lindner*, Mikromaßanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes. Berlin 1935.

[4] *J. B. Niederl* and *Roslyn T. Roth*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 272 (1934). — *J. B. Niederl* and *V. Niederl*, Micromethods of Quantitative Organic Elementary Analysis. New York 1938.

they terminate 15 to 20 mm. above the surface of the absorption liquid, or approximately 110 mm. above the stopcock. The vertical outlet *m* of the T-tube is fitted with a short piece of rubber tubing closed by a pinchcock: the horizontal outlet *e* is connected to the *Mariotte* flask.

At the start of every working period (day), the titration vessel together with the inlet tube and the spiral are steamed out while the sample for the first combustion is being weighed. The spiral tube is then attached to the carbon dioxide inlet tube and the titration vessel is attached to the sleeve of the rubber stopper. The tips of the burets containing the standard solutions are completely filled, after which the stopcock of the dropping funnel is opened and distilled water is allowed to pass over the tips to wash away any adhering droplets of standard solution. This wash water and subsequent rinsings pass out through the stopcock at the bottom of the titration vessel, after which both cocks are closed. Then 0,1 ml. of neutral ethyl alcohol and two drops of phenolphthalein solution are introduced through the vertical outlet of the T-tube by capillary pipettes 1 mm. in diameter and 15 cm. long. This opening is then sealed with the short rubber tubing and pinchcock and the combustion and titration are carried out as described in the first publication.

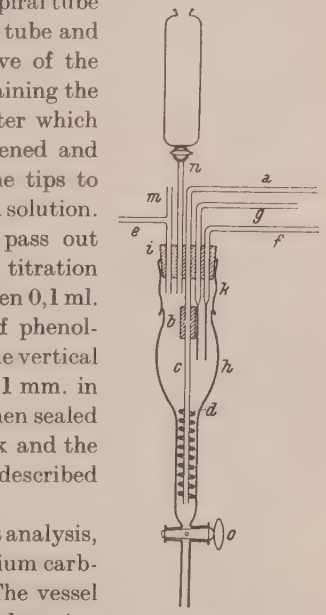


Fig. 1.

To prepare the titration vessel for the next analysis, the titrated solution with the suspended barium carbonate is withdrawn through the stopcock. The vessel is then rinsed by admitting through the dropping funnel five 20 ml. portions of wash liquid. The first, third and fifth portions of wash liquid consist of distilled water, the second and the fourth of neutral alcohol. The changes in the surface tension brought about by the alternate application of water and alcohol permit a nearly quantitative removal of the barium carbonate. The alcohol is collected separately and, after some standing, is decanted from the sediment and used until its efficiency becomes poor due to dilution with water.

Results

The results shown below indicate (p. 24) the feasibility of the method with representative types of organic compounds.

Attempts to convert this method into a semi-micro procedure in which the use of a microchemical balance could be dispensed with, led to changes in design of the apparatus and in the strength of the standard solutions employed, as well as in speed and pressure conditions in the

combustion. All these changes, however, resulted in a semi-micro procedure which proved to be not more practical than the conventional gravimetric semi-micro method.[1]

Substance	Sample mg.	% Carbon found	% Carbon calculated	Error %
1. Succinic Acid	4,812	40,40	40,68	0,28
2. „ „	3,734	40,81		0,13
3. Benzoic Acid	3,566	69,13	68,88	0,25
4. „ „	3,502	68,70		0,18
5. o-Chlorobenzoic Acid	4,366	53,70	53,68	0,02
6. „ „	3,435	57,97		0,29
7. Sulfonal	3,070	36,94	36,79	0,15
8. „	3,481	37,04		0,25

Summary

The previously described micromethod for the titrimetric determination of carbon in organic compounds has been simplified by the introduction of a modified absorption-titration vessel. Thus the change and the steaming out of this vessel after each determination have been eliminated and the procedure was rendered more practical.

Investigations as to the possibility of devising a semi-micro method along similar principles were discontinued, since it became apparent, that such a method would offer no advantages over existing gravimetric semi-micro combustion procedures.

Zusammenfassung.

Die Versuche zur Vereinfachung der Titriermethode für die quantitative Bestimmung von Kohlenstoff in organischen Substanzen führten zu einer Verbesserung der Titriervorrichtung, wonach sich die jedesmalige Auswechslung und Ausdämpfung des Titriergefäßes erübrigt. Die in erster Linie als einfacher Behelf für organisch-chemische präparative Arbeiten bestimmte Methode erhält dadurch erhöhten praktischen Wert.

Arbeiten zur Übertragung dieser Methode auf einen Halbmikromaßstab wurden eingestellt, da es sich zeigte, daß die Vergrößerung der Einwaage die Methode unhandlich und unpraktisch macht.

Résumé.

Au cours des essais pour simplifier l'analyse titrimétrique du carbone dans les substances organiques on a introduit un vaisseau modifié pour le titrage qui permet d'épargner l'échangement et l'évaporation après chaqu'analyse. La méthode, déstinée en premier lieu à aider aux travaux organo-chimiques préparatifs reçoit ainsi une valeur pratique augmentée.

Les expériences, d'élaborer cette méthode comme semi-microméthode ont été cessées, car on voyait, qu'une augmentation de la prise d'essai n'était pas favorable pour la méthode; elle la rendait moins pratique et peu maniable.

[1] *H. ter Meulen* and *J. Heslinga*, Neue Methoden der organisch-chemischen Analyse. Berlin 1927.

Coates Laboratory, Louisiana State University

The Microscopical Detection of Rubidium in the Presence of Cesium

By

H. A. Frediani and **L. Gamble**

(Eingelangt am 31. Mai 1938.)

In a recent report[1] the use of naphthol-yellow-S has been suggested for the qualitative detection of potassium in the presence of ammonium ion. In the course of study it was noticed that the dye precipitated rubidium but did not precipitate cesium. The purpose of this investigation was to determine whether or not naphthol-yellow-S (2,4 dinitro-1-naphthol-7-sulfonic acid) could be used advantageously in the distinction between these two ions.

The separation of rubidium and cesium is notoriously difficult[2] and many workers have applied themselves to this problem. A review of the literature applicable to this task has been admirably compiled by *O'Leary* and *Papish*[3] who suggested the use of luteophosphomolybdic (9-phosphomolybdic) acid for the separation of rubidium and cesium from potassium followed by the separation of cesium as the insoluble cesium silicotungstate. No mention as to the applicability of this test to microscopical analyses has been made. Since the papers of *O'Leary* and *Papish*, *Burkser* and *Kutschment*[4] have suggested the use of $Cs_2Au_2PtBr_2$ as a colorimetric spot test for cesium. *Tananaev*, *Kankanyan*, and *Darbinyan*,[5] *Wells* and *Stevens*,[6] *Illingsworth* and *Santos*,[7] *Takio Kato*,[8] *van Nieuwenburg* and

[1] Presented before the *Microchemical Section of the Amer. Chem. Soc.* at the Dallas Meeting, April 1938; Mikrochemie **24**, 217 (1938); **25**, 382 (1938).

[2] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, II, pp. 72, 76. New York 1932.

[3] *Wm. J. O'Leary* and *J. Papish*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 107 (1934).

[4] *E. S. Burkser* and *M. L. Kutschment*, Mikrochemie **18**, 18 (1935).

[5] *N. A. Tananaev*, *A. G. Kankanyan*, and *M. V. Darbinyan*, Journ. Applied Chem. (USSR.) **6**, 980 (1933).

[6] *R. C. Wells* and *R. E. Stevens*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 439 (1934).

[7] *J. W. Illingsworth* and *J. A. Santos*, Nature **134**, 971 (1934).

[8] *Takio Kato*, Journ. chem. Soc. Japan **56**, 398 (1935).

van der Hoek,[1] and *Scheintzis*[2] have suggested methods for the detection and separation of this alkali metal. However, as we believe the use of naphthol-yellow-S for this separation is far simpler than most of the previously mentioned methods, it was thought worth while to report our results.

The naphthol-yellow-S had previously been utilized by us for the preparation of 2,4 diamino-1-naphthol-7-sulfonic acid according to the directions of *Lauterbach*.[3] For the use as reagent the naphthol-yellow-S was, as previously mentioned (see footnote 1, p. 25), thrice recrystallized from aqueous solution. The literature reports a melting range for the free acid of from 140–150° C. The product obtained in this laboratory, as well as a sample obtained from Eastman-Kodak and recrystallized, melted between 148–149,5° C. A 0,5% aqueous solution was used as reagent.

In determining the effect of foreign ions upon the reagent, solutions of the chlorides, nitrates or acetates of the following metals were prepared and utilized:

sodium	magnesium	bismuth	zirconium
lithium	thallium(ous)	copper(ic)	iron(ic)
ammonium	silver	mercury(ic)	cobalt
cesium	lead	tin(ic)	

These solutions were prepared so as to have a concentration of 40 mg./ml. of the metallic ion. The reagent grade chemicals used to prepare these solutions were recrystallized from freshly redistilled water and tested spectroscopically for purity.

In determining the sensitivity of the test, solutions of $RbNO_3$ varying in Rb ion concentration from 0,05 to 40 mg./ml. were prepared and used. Using one drop (0,04 ml.) each of the reagent and test solutions the limiting concentration was found to be 3,0 mg./ml. A test drop of this concentration yielded nicely formed yellow, acicular needles immediately upon mixing. With polarized light it was found that the needles formed had an extinction angle of 76,4°; the sodium salt which crystallizes only upon evaporation to dryness, shows parallel extinction.

The previous work (see footnote 1, p. 25) had shown that small amounts of free, strong acids prevented the formation of the insoluble potassium salt. This is also true for rubidium. One drop of 6-*N* HCl, HNO_3 or H_2SO_4 is sufficient to prevent precipitation from two milliliters of the 20 mg./ml. rubidium test solution. Neutralization of the solution by means of K and Rb free NaOH permits the use of the test. Acetic acid and formic acid, however, have no effect upon the sensitivity of the test. As much as one milliliter of concentrated acetic acid (with two milliliters of test solution) has no

[1] *C. J. van Nieuwenburg* and *T. van der Hoek*, Mikrochemie **18**, 175 (1935).
[2] *O. G. Scheintzis*, Zavodskaya Lab. **4**, 1047 (1935).
[3] *M. Lauterbach*, Ber. Dtsch. chem Ges. **14**, 2028 (1881).

effect, the precipitate forming immediately. In fact, a 0,5% solution of the naphthol-yellow-S in pure formic acid may be used for reagent. The rubidium crystals form as rapidly as with the aqueous solution although they become reddish in color and grow appreciably larger.

The only ions, of those studied, found to interfere with this test are mercuric, thallous and stannic as well as silver, lead and cupric (previously reported). These ions form insoluble salts which may mask the presence of rubidium. They would, however, ordinarily be separated before testing for the alkali metals.

The solubility of the reagent in water was found to be 0,01914 g./ml. at 30° C., an end-over-end agitator submerged in a constant temperature bath being used for this determination. The limit of identification, determined by the method suggested by *Benedetti-Pichler* and *Spikes*,[1] was found to be 6,8 μg. The limiting proportion of Cs:Rb is 230:1.

At present a study is being made to determine the applicability of the test to a quantitative separation of potassium and rubidium from solutions containing varying amounts of other alkali metals. The exact p_H range over which the test is valid is also being determined.

[1] *A. A. Benedetti-Pichler* and *W. F. Spikes*, Microtechnique of Inorganic Qualitative Analysis. New York 1935.

Contribution from the Chemical Laboratories of New York University

Simplified Combustion Tube Filling for Micro Carbon and Hydrogen Determinations

By

Joseph B. Niederl and **Victor Niederl**

(Eingelangt am 20. Juni 1938.)

With the introduction of simplified combustion tube fillings for the analysis of organic compounds containing carbon, hydrogen, oxygen and halogen by *J. B. Niederl* and *V. Niederl*[1] and for organic compounds containing nitrogen,[2] systematic studies on possible simplifications of the universal combustion tube filling[3] were begun in this laboratory. The present investigation deals with the possibility of eliminating the lead chromate from the combustion tube filling.

One combustion tube was filled according to *J. B. Niederl* and *R. T. Roth*[4] and one according to *J. B. Niederl* and *V. Niederl*;[5] the lead chromate, however, was omitted in both cases. After using both combustion tubes continuously for three months with sulfur compounds, as well as all sorts of organic compounds, *no* influence whatsoever upon the carbon and hydrogen results could be observed. These findings are in harmony with concomitant investigations of *G. L. Royer* and *R. Koegel*[6] who likewise omitted the lead chromate and performed combustions not only with various types of organic sulfur compounds, but also with elementary sulfur and with sulfuric acid.

As shown by *E. W. D. Huffman*[7] and *W. R. Kirner*[8] metallic silver, at a temperature of 400° C. and above, appears to be able to absorb quantitatively the oxides of sulfur with the formation of silver sulfate. Thus further independent experimental verification of the fact that lead chromate is not necessary in micro combustions, when metallic silver is present, has been offered.

[1] *J. B. Niederl* and *Victor Niederl*, Micromethods of Quantitative Organic Elementary Analysis, p. 88. New York 1938.

[2] *J. B. Niederl* and *B. Whitman*, Mikrochemie **11**, 274 (1932).

[3] *F. Pregl*, Quantitative organische Mikroanalyse. Berlin 1930.

[4] *J. B. Niederl* and *R. T. Roth*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 272 (1934).

[5] *J. B. Niederl* and *V. Niederl*, ibid., p. 88.

[6] *G. L. Royer* and *R. Koegel*, private communication, June 7, 1938.

[7] *E. W. D. Huffman*, Mikrochemie **24**, 218 (1938).

[8] *W. R. Kirner*, Mikrochemie **24**, 219 (1938).

Contribution from the Chemical Laboratories of New York University

Confirmatory Tests for Lithium, Sodium, Potassium, Cesium. Strontium, and Lead

By

J. I. Adams, A. A. Benedetti-Pichler and **J. T. Bryant**

(Eingelangt am 1. Juli 1938.)

The following collection of experiences with confirmatory tests has been compiled for the convenience of microanalysts interested in this type of work. The investigation of the triple nitrite tests will be continued and a more complete report will be given at a later time, but because of the practical applicability of the preliminary findings, it was thought advisable to communicate the available information without further delay.

Lithium and Sodium

It has been found[1] that lithium forms difficultly soluble triple acetates which, like those of sodium, are precipitated when lithium solutions are treated with magnesium-uranyl acetate or zinc-uranyl acetate. Statements by *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*[2] cast some doubt on the existence of triple acetates of lithium, and for this reason our experiments were repeated in quartz apparatus with the use of specially purified reagents. The lithium chloride used was freed from sodium by precipitation of the carbonate and solution of the carefully washed precipitate in hydrochloric acid. The reagent solutions, magnesium-uranyl acetate and zinc-uranyl acetate, were prepared from salts in which the flame test showed the absence of sodium. The qualitative analyses of the thus prepared triple acetates of lithium showed the presence of lithium, uranium, and magnesium or zinc respectively; the flame tests indicated not more than traces of sodium.

As to the shape of the crystals of the triple acetates of lithium, one may say in general that the *lithium-zinc*-uranyl acetate resembles the

[1] *Ch. C. Miller* and *F. Traves,* Journ. Chem. Soc. London **1936**, 1935; *A. A. Benedetti-Pichler* and *J. T. Bryant,* Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 107 (1938).

[2] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason,* Handbook of Chemical Microscopy, II, pp. 56, 87. New York 1931.

sodium-magnesium-uranyl acetate while the crystals of the *lithium-magnesium*-uranyl acetate show approximately the same forms as those of the *sodium-zinc*-uranyl acetate. It must be pointed out, however, that this statement refers to the predominance of characteristic shapes rather than to their definite presence or absence. In addition it should be said that with each of the above compounds the general appearance of the precipitate varies somewhat depending upon the conditions under which the crystallization takes place.

These facts show that the triple acetates are not well suited for the distinction between sodium and lithium. They should certainly not be employed for the identification of sodium, since the precipitation of the sodium-uranyl double acetate is by far more specific. For the identification of lithium, however, the formation of the lithium-zinc-uranyl acetate may be recommended for lack of more efficient slide tests.

For identification, the lithium is first separated from sodium and isolated as the chloride (see footnote 1, p. 29). The lithium chloride is dissolved in such a volume of water as to give a concentration of approximately 10 mg.Li/ml. Part of this solution is diluted, and in this way two solutions of the approximate concentrations 5 mg.Li/ml. and 2 mg.Li/ml. are obtained. One portion of each of the three solutions is tested by means of the zinc-uranyl acetate reagent, another by the addition of solid ammonium-uranyl acetate as outlined at the close of this section. The formation of the triple acetate in one series of tests combined with the negative results of the sodium tests in the other series furnishes convincing proof for the presence of lithium.

The triple acetate test is performed as follows: a drop of the test solution is placed on a microscope slide and an equal volume of the reagent solution[1] is deposited at a distance of approximately 1 mm. from the test drop. When the two droplets are connected by a thread of liquid with the aid of a glass needle, the crystallisation of the triple acetate takes place immediately. The *lithium-zinc*-uranyl acetate separates mostly in forms of granular appearance; regularly developed octahedra, as shown in figures 3 and 4 of plate I of *Geilmann*'s atlas,[2] are quite abundant. These crystals can hardly be mistaken for the rather characteristic, often large, elongated forms of the *sodium-zinc*-uranyl acetate.[3] With the latter,

[1] Ten grams of uranyl acetate dihydrate are dissolved in 6 g. of 30% acetic acid and 49 ml. water; 30 g. zinc acetate trihydrate are dissolved in 3 g. of 30% acetic acid and 32 ml. water; the two solutions are mixed, and the mixture is filtered after 24 hours. *W. F. Hillebrand* and *G. E. F. Lundell*, Applied Inorganic Analysis, p. 522. New York 1929.

[2] *W. Geilmann*, Bilder zur qualitativen Mikroanalyse anorganischer Stoffe. Leipzig 1934.

[3] Ibid., plate I, figures 5 and 6; see also *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, II, p. 53. New York 1931.

sturdily developed prismatic crystals and elongated hexagons are frequent, while regularly developed octahedra are rarely found.

The zinc-uranyl acetate reagent itself[1] furnishes on evaporation crystals which might be mistaken for those of a triple acetate. These crystals usually separate during the microscopic inspection in a zone along the circumference of the test drop, especially if the work is performed under conditions promoting rapid evaporation. The use of crossed nicols, however, permits one to differentiate between the two solid phases. The crystals of the reagent appear bright or colored, while even large crystals of the triple acetates exhibit only a light gray of the first order. Insertion of a selenite plate reveals the composite structure of many of the octahedral crystals of the triple acetates, since some sectors of these crystals appear yellow while others at the same time display the blue of second order.

If the volume of the test drops is made a fraction of a lambda, the limit of identification for both sodium and lithium is approximately 0,4 γ no matter whether the zinc-uranyl acetate reagent or the magnesium-uranyl acetate reagent is used (see footnote 1, p. 29).

The following procedure has been found advantageous for the detection of sodium with the use of ammonium-uranyl acetate: a drop of the neutral aqueous solution of the chloride, nitrate or sulfate, containing approximately 1 to 10 mg. of sodium per milliliter, is treated with a small quantity of solid ammonium-uranyl acetate. The isotropic tetrahedra of the sodium-uranyl acetate separate immediately after the addition of the reagent. The corresponding lithium salt is rather soluble, but may crystallize along the boundary of the test drop when the concentration increases because of evaporation of the solvent. The lithium salt produces prismatic crystals, irregular hexagons, and forms which more or less imitate the appearance of an octahedron or tetrahedron. The crystals of the lithium salt are, however, strongly birefringent, and thus easily distinguished from those of the sodium salt. The presence of large quantities of lithium—ten or more parts of lithium for one part of sodium—does not inhibit the immediate formation of the tetrahedra of the sodium-uranyl acetate.

Potassium

Experience has shown us (see footnote 1, p. 29) that, of all of the alkalies, potassium presents the greatest difficulties when it is to be conclusively identified in mixtures with rare alkalies. The flame coloration is neither characteristic nor sensitive, and all of the tests based upon separation of precipitates are equally given by cesium and rubidium, not to mention ammonium ion. Convincing indirect proof of the presence of

[1] The statements of this paragraph apply equally to the crystallizations obtained with the magnesium-uranyl acetate reagent.

potassium can be obtained—as also with lithium—by demonstrating the absence of rubidium and cesium, two elements for which sufficiently specific tests are available.

The following procedure is suggested: the potassium is first isolated (see footnote 1, p. 29) so as to permit the estimation of its quantity. Then a solution containing approximately 1 mg.K/ml. is prepared, and of this solution two separate drops, each of 1 λ volume, are deposited on a microscope slide. For the purpose of comparison two drops of a solution of pure potassium chloride and two drops of a solution of pure rubidium chloride are placed on the same slide;[1] both solutions should contain 1 mg. cation per milliliter, and all of the drops should have the same volume, 1 λ. The slide is then gently heated in order to evaporate the drops to dryness. When the slide has cooled to room temperature, three of the residues—one of each kind—are treated with a 5% solution of chloroplatinic acid, and the other three residues are tested with a solution of chlorostannic acid which is obtained by dissolving 2 g. of $SnCl_4 \cdot 5H_2O$ in 5 ml. of 13-*M* HCl and 15 ml. water. The volume of reagent added should be approximately the same in every one of the six tests, e. g. 1 λ. If pure potassium salt has been isolated in the analysis, the residues of the unknown will behave exactly as do those of the potassium chloride solution, i. e. they will give a copious precipitate with chloroplatinic acid, but no precipitation with the stannic chloride solution. If the unknown residue contains heavy alkali, comparison of the precipitate with the chlorostannate precipitate given by the residue of the rubidium chloride solution will show whether or not the heavy alkali should be made responsible for all of the chloroplatinate obtained from the residue of the unknown. The comparison of the quantities is best accomplished with the unaided eye after placing the slide on a dark paper.

With 0,1 γ and less of the alkali, the cubic crystals of Rb_2SnCl_6 and Cs_2SnCl_6 separate immediately on addition of the reagent. The potassium salt K_2SnCl_6 is far more soluble and crystallizes only when the evaporation of the test drop becomes nearly complete. The rather large octahedra of K_2SnCl_6 can hardly be mistaken for the precipitates of either rubidium or cesium. Additional information concerning the well known chlorostannate tests may be found in the literature.[2]

Cesium

Attention is called to the fact that the formation of the characteristically colored hexagonal plates of cesium iodobismuthite may be

[1] The principal contaminant of the isolated potassium salt is usually rubidium. If rubidium is absent, or cesium is suspected to contaminate the potassium salt, a solution of cesium chloride should be used for comparison.

[2] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, II, p. 82. New York 1931.

utilized as a sensitive and specific slide test for cesium. A droplet of the solution to be tested is transferred to a slide, and an equal volume of $HBiI_4$ reagent[1] is placed close to the test drop. Then contact between the two solutions is made with the aid of a glass thread. Yellow, orange, or red, hexagonal plates or stars confirm the presence of cesium. The limit of identification was found equal to 0.02 γ Cs (see footnote 1, p. 29). Rubidium and potassium do not give the test, and they do not interfere with the test for cesium even when present in large quantities, Cs : Rb, K = 1 : 100, or better.

Whenever it happens that the crystals of the cesium iodobismuthite do not form immediately after addition of the reagent, the test should be allowed to stand until complete evaporation has taken place. The presence of cesium is confirmed by the discovery of hexagonal plates in the residue—regular hexagons, or regularly formed six pointed stars—which appear dark between crossed nicols and remain dark when the stage is rotated. The body color of these crystals should conform to their thickness; very thin plates should appear yellow, and thick ones should possess a dark red color, which sometimes approaches black. It is quite common that the residue contains only a few, but rather large crystals of the cesium iodobismuthite. The reagent itself gives upon evaporation yellow to dark red crystals which are strongly birefringent and separate as needles, rods, prismatic plates, diamonds, dendrites, or ornamental patterns. If the reagent has been stored for some time, it may contain a precipitate of irregularly formed brown flakes. Before use, such reagent should be clarified by centrifuging.

Strontium

A recent investigation of the triple nitrite test[2] led to the discovery of a confirmatory test for strontium. A small drop of the strontium solution is placed on a microscope slide and evaporated to dryness. The residue is moistened with a solution of cupric nitrate or cupric acetate which contains a quantity of cupric ion approximately equal to five times the quantity of the strontium ion in the residue. The mixture is evaporated to dryness. When the slide has cooled to room temperature, the residue is treated with a small volume of the nitrite reagent described below. The separation of small *green* squares—probably a triple nitrite of potassium, strontium and copper—confirms the presence of strontium. The use of transmitted light of high intensity is essential for the recognition of the color of the crystals under the microscope.

[1] Three tenths of a gram of Bi_2O_3 are dissolved in 1 ml. of hydriodic acid, sp. gr. 1,6; the solution is diluted with 2 ml. of water. *R. W. Feldmann*, Ztschr. analyt. Chem. **102**, 102 (1935).

[2] Unpublished work of *J. I. Adams*; see also the following section on lead.

As generally known, the nitrite reagent is not sufficiently stable to warrant storing. It is prepared when needed by mixing equal volumes of potassium nitrite solution and acetate buffer solution. The potassium nitrite solution is made by dissolving 500 g. KNO_2 in water to give 1 liter of solution. The buffer is obtained by dissolving 450 g. sodium acetate, or 325 g. potassium acetate, and 100 ml. glacial acetic acid in water to make 1 liter of solution. A comparison with the usual recipes for the preparation of the nitrite reagent will show that the absence of ammonium salts is the principal qualitative difference in the new formula. The use of ammonium acetate has been avoided in order to obtain a more stable reagent, which, mixed ready for use, retains its efficiency for several days.

The above reagent produces the green squares of the strontium compound after a few minutes standing; barium, calcium and magnesium do not give the test. If the nitrite reagent is prepared from a potassium nitrite solution containing 1000 g. KNO_2 per liter, the strontium test is made more sensitive, and with medium and low concentrations of strontium the green squares separate immediately. Calcium, however, interferes when the strong nitrite solution is used for the preparation of the reagent, because calcium produces a few green crystals with this reagent. Barium does not cause the formation of green crystals, but it inhibits the strontium test if the quantity of barium is ten times greater than that of strontium.

Lead

It has been brought to our attention[1] that it should be possible to replace lead by barium and strontium[2] in the well known triple nitrite test. One of us has shown that strontium, and possibly calcium, produce crystalline precipitates in slide tests which may be mistaken for the crystals of the potassium-lead-copper nitrite if the illumination is not sufficiently strong to reveal the difference in color. The separation of nitrites of barium (colorless), strontium and calcium (green), requires, however, a very high nitrite concentration in the test drop. If, therefore, the triple nitrite test for lead is carried out in accordance with the instructions of *Benedetti-Pichler* and *Spikes*,[3] precipitation of the nitrites of barium, strontium, or calcium will not take place.

Instead of the reagent described by the latter authors, the nitrite reagent, the composition of which is given in the preceding section on

[1] Private communication of *Ch. J. Slany*, Cleveland, Ohio, June 24, 1937.

[2] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, II, pp. 184, 186. New York 1931.

[3] *A. A. Benedetti-Pichler* and *W. F. Spikes*, Introduction to the Microtechnique of Inorganic Qualitative Analysis, p. 60. Douglaston, N. Y. 1935.

strontium, is now recommended. The new nitrite reagent has, aside from its considerably increased stability, the advantage of producing in the lead test a smaller amount of crystallization of various colorless, green and blue salts which, when using the reagent of *Pichler* and *Spikes*, sometimes interfere with the observation of the lead precipitate. Using the new reagent, strontium does not interfere with the lead test when the two are present in equal quantities. If the amount of strontium exceeds the quantity of lead ten times, the green squares of the strontium compound and the brown squares of the potassium-lead-copper nitrite become visible side by side. Barium does not produce crystals which could be mistaken for the lead precipitate, but large quantities of barium reduce the sensitivity of the lead test. It need hardly be pointed out that the new reagent also reacts with lead sulfate and forms the triple nitrite. Barium sulfate and strontium sulfate, once formed, do not react with either the *Pichler-Spikes'* reagent or the new nitrite reagent.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien.

Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (VII).

Nachweis von Polyoxyverbindungen.

Von

O. Frehden und **K. Fürst.**

(Eingelangt am 5. Juli 1938.)

Mehrwertige Alkohole, z. B. Glykol, Glycerin, Erythrit, Mannit usw., werden nach *L. Malaprade*[1] durch überschüssige Perjodsäure in der Kälte zu Formaldehyd und Ameisensäure abgebaut, wobei die Perjodsäure in Jodsäure übergeht. Die Umsetzung folgt der Bruttogleichung:

$$CH_2OH \cdot (CHOH)_n \cdot CH_2OH + (n + 1)\, HJO_4 \rightarrow$$
$$\rightarrow 2\, HCHO + n \cdot HCOOH + (n + 1)\, HJO_3 + H_2O.$$

F. Feigl und *R. Zappert*[2] benützen nun nach Zerstörung des überschüssigen Perjodats mit schwefliger Säure die Aldehydreaktion mit fuchsinschwefliger Säure zum Nachweis solcher Polyoxyverbindungen bei Abwesenheit von Aldehyden.

Der von uns[3] auf der Umsetzung mit freiem Brom gemäß der Gleichung

$$HCOOH + Br_2 \rightarrow 2\, HBr + CO_2$$

begründete Nachweis von Ameisensäure durch Überführen der gebildeten Kohlensäure in Bariumcarbonat ermöglicht es, nicht nur die Reaktion erheblich empfindlicher zu gestalten — statt zwei Molen Formaldehyd stehen nun n Mole Ameisensäure zur Verfügung, wobei n meist ziemlich groß ist —, sondern erlaubt auch die Ausführung des Nachweises bei Gegenwart von Aldehyden (mit Ausnahme von Formaldehyd).

Ausführung: In dem von *F. Feigl*[4] für solche Zwecke empfohlenen Gasentwicklungsgefäß oder dem gleichfalls anwendbaren Mikrodestillations-

---

[1] *L. Malaprade*, Compt. rend. Acad. Sciences **185**, 1132 (1927); Bull. Soc. chim. France **43**, 653 (1928); Chem. Ztrbl. **1928 I**, 1755; **1928 II**, 797.

[2] *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen. 3. Aufl., S. 383. Leipzig 1938.

[3] *O. Frehden* und *K. Fürst*, Mikrochemie **25**, 256 (1938).

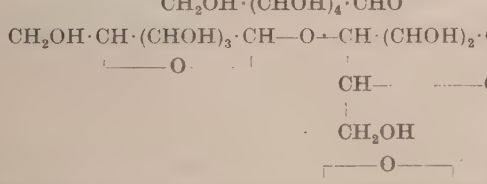
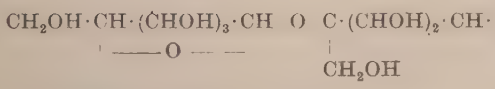
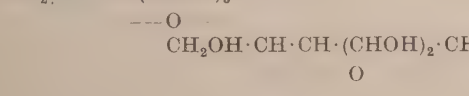
[4] *F. Feigl*, a. a. O., S. 154, Abb. 18.

apparat[1] wird ein wenig der zu prüfenden Substanz mit 2 Tropfen gesättigter Perjodatlösung und 2 Tropfen 1 n-Schwefelsäure versetzt und schwach erwärmt. Dann werden einige Tropfen Bromwasser bis zur deutlichen Gelbfärbung hinzugefügt und nach Einbringen einer Glasperle oder eines Quarzsplitters die gebildete Kohlensäure abdestilliert und in mit flüssigem Paraffin überschichteter Barytlauge aufgefangen. Eine weiße Trübung zeigt Polyoxyverbindungen an.

Reagenzien: 1. Natriumperjodatlösung, gesättigt.
2. 1 n-Schwefelsäure.
3. Barytlauge, gesättigt.
4. Paraffinum liquidum.

Mit der beschriebenen Reaktion konnten nachgewiesen werden:

Tabelle I.

Name	Formel	Erfassungsgrenze in γ
Glycerin	$CH_2OH \cdot CHOH \cdot CH_2OH$	2,5
Mannit	$CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot CH_2OH$	3
Glucose	$CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot CHO$	5
Lävulose	$CH_2OH \cdot (CHOH)_3 \cdot CO \cdot CH_2OH$	5
Arabinose	$CH_2OH \cdot (CHOH)_3 \cdot CHO$	5
Mannose	$CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot CHO$	2,5
Maltose		2,5
Saccharose		7
Milchzucker		6
Dextrin	$(C_6H_{10}O_5)_x$	6
Stärke	$(C_6H_{10}O_5)_n$	20,0
Schleimsäure	$HOOC \cdot (CHOH)_4 \cdot COOH$	3

[1] *F. Feigl*, a. a. O., S. 155, Abb. 20.

Zusammenfassung.

Mehrwertige Polyoxyverbindungen werden durch Perjodsäure nach *Malaprade* zum größten Teil in Ameisensäure übergeführt; die letztere wird durch die in einer früheren Arbeit als Nachweis beschriebene Umsetzung mit Brom zu CO_2 und Auffangen in Barytlauge erkannt. Der Nachweis ist auch ausführbar bei Gegenwart größerer Mengen von Aldehyden; nur Formaldehyd stört, da dieser mit überschüssigem freiem Brom erst Ameisensäure und weiterhin CO_2 bildet. Die erreichbaren Erfassungsgrenzen betragen im Durchschnitt 3 bis 5 γ Polyoxyverbindung.

Summary.

The test for formic acid described in a previous paper may also be applied to the detection of polyvalent alcohols, which for this purpose are oxidised to formaldehyde and formic acid by periodate in sulphuric acid solution, according to the method of *L. Malaprade*. After further oxidation of the above compounds by means of bromine water, the resultant carbon dioxide is collected in baryta water, and detected by the turbidity which it causes.

The reaction, which may be carried out microchemically, renders possible the detection of polyvalent alcohols in the presence of aldehydes (except formaldehyde).

Résumé.

La réaction du dosage de l'acide formique, décrite dans un travail précédent, permet aussi le dosage des alcools polyvalents. A ce but, *L. Malaprade* oxyde ceux-ci avec periodate en solution sulfurique à formaldéhyde et à acide formique. Si l'on continue l'oxydation de l'acide à l'aide de solution de brome on peut recueillir le dioxide de carbone dans une solution de hydrate barytique et on le peut déceler par le troublement, qui se forme en même temps.

La réaction, qui peut aussi être exécutée comme microdosage, rend possible le dosage des alcools polyvalents auprès des aldéhydes (excepté le formaldéhyde).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien.

Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (VIII).

Aldehydnachweis mit haltbarem Reagenspapier.

Von

O. Frehden und K. Fürst.

(Eingelangt am 5. Juli 1938.)

Seit langem ist man bestrebt, ein haltbares Reagenspapier zum raschen Nachweis von Aldehyden zu schaffen. Neutrale Sulfite entfärben wäßrige Lösungen von Triphenylmethanfarbstoffen (z. B. Fuchsin oder Malachitgrün) augenblicklich; Zusatz von Aldehyden (z. B. einer wäßrigen Lösung von Acetaldehyd) zu solcherart entfärbten Lösungen ruft wieder Färbung hervor.[1] Wir haben diese Tatsache nun dazu benützt, einen neuen Aldehydnachweis mit haltbarem Reagenspapier auszuarbeiten. Wenn man in einer später genau zu beschreibenden Weise mit einer Malachitgrün-Natriumsulfit-Lösung Reagenspapier tränkt und sorgfältig an der Luft trocknet, so bleibt dieses vollkommen weiß, selbst nach mehrwöchiger Aufbewahrung. Bringt man auf ein solches Tüpfelpapier einen Tropfen einer Aldehydlösung, so färbt sich dieses, je nach der vorhandenen Aldehydmenge, sofort oder erst nach geraumer Zeit an der Reaktionsstelle leuchtend grün. Ketone reagieren nicht.

Da in saurem Medium die Entfärbung der Triphenylmethanfarbstoffe durch Sulfition keine vollständige ist, erweist es sich als nötig, bei Untersuchung saurer Lösungen diese vorerst zu neutralisieren. Den Mechanismus der Reaktion könnte man vielleicht folgendermaßen erklären: Im alkalischen Gebiet zeigen Aldehyde große Neigung zur Autoxydation, möglicherweise unter intermediärer Bildung von H_2O_2. Durch dieses wird die Leukoverbindung, deren Oxydationsgeschwindigkeit bei dem in Betracht kommenden p_H viel größer sein dürfte als die des gleichzeitig anwesenden Sulfitions, in den Farbstoff übergeführt; eine merkbare Verzögerung der Reaktion bei Ausführung der Umsetzung im Vakuum scheint diese Auffassung zu stützen.

[1] *E. Votoček*, Ber. Dtsch. chem. Ges. **40**, 414 (1907). — *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen. 3. Aufl., S. 320. Leipzig 1938.

Ausführung des Nachweises: Ein Tropfen der zu untersuchenden, neutralen Probelösung wird auf das „Aldehydreagenspapier" aufgebracht; Grünfärbung zeigt Aldehyd an.

Herstellung des Reagenspapieres: 0,8 g Malachitgrün werden in der Hitze durch Zusatz von 3 g Natriumsulfit als Leukobase in Lösung gebracht; nach Zusatz von weiteren 2 g Natriumsulfit wird filtriert. Im Filtrat fallen beim Erkalten Kristalle der Leukobase aus. Mit dieser nun schwach gelblich gefärbten Lösung werden Streifen eines dünnen Tüpfelpapieres getränkt und an der Luft ohne Anwendung von Wärme getrocknet. Das Papier muß rein weiß sein, ohne eine Spur eines grünen Stiches zu zeigen. Es konnte in Schachteln verschlossen mehrere Wochen unverändert aufbewahrt werden.

Es wurden über 20 Aldehyde geprüft, wobei sich Empfindlichkeiten von 20 bis 300 γ ergaben.

Zusammenfassung.

Ein haltbares Reagenspapier zum raschen Nachweis von Aldehyden und seine Herstellung werden beschrieben. Mit Natriumsulfit entfärbtes Malachitgrün wird durch Zufügen von Aldehyden wieder gefärbt. Die feine Verteilung, die durch das Tränken von Reagenspapier mit der entfärbten Lösung und nachheriges Trocknen erreicht wird, begünstigt die Reaktion; die Lösungen müssen neutral sein, da auch Säuren und Alkalien Farbänderungen hervorrufen.

Auf dem vollkommen weißen (trockenen) Reagenspapier entsteht nach Aufbringen eines Tropfens der auf Aldehyd zu prüfenden Lösung ein leuchtend grüner Fleck.

Summary.

The preparation of a stable test paper for the rapid detection of aldehydes is described. Malachite green which has been decolorised by sodium sulphite regains its colour on the addition of aldehydes. The reaction is favoured by the fine state of division attained by moistening the test paper with the decolorised solution, followed by subsequent drying. The solutions must be neutral, since both acids and alkalis cause changes of colour.

If a drop of the solution to be tested for aldehydes is placed on the colourless, dry test paper, a bright green spot appears if an aldehyde is present.

Résumé.

On décrit un papier à réactions chimiques stable et sa préparation pour le dosage rapide des aldéhydes. Vert-malachite, décoloré par sodium monosulphite, est recoloré en ajoutant l'aldéhyde. La distribution très fine, qu'on atteint par l'imprégnation du papier à réactions chimiques avec la solution décolorée et le séchage suivant, favorise la réaction; les solutions doivent être neutres, puisque des acides et des bases provoquent aussi des changements de couleur.

Sur le papier à réactions chimiques absolument blanc (sec) se forme, après avoir mis une goutte de la solution, qu'on veut essayer à l'aldéhyde, une tache d'un vert lumineux.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien.

Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (IX).

Ein neuer Nachweis von freiem Chlor und chlorhaltigen Substanzen.

Von

O. Frehden und **Chen-Hua Huang.**

(Eingelangt am 5. Juli 1938.)

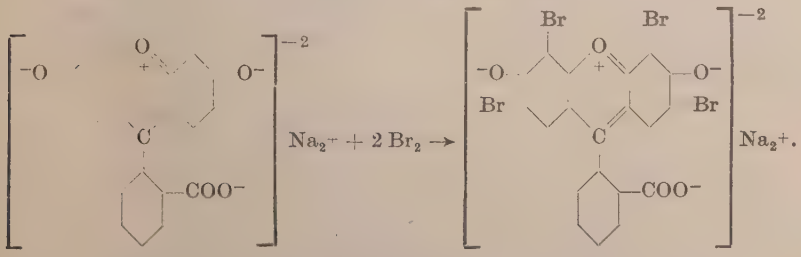
In der Fluoresceinprobe wurde von *D. Ganassini*[1] ein empfindlicher Nachweis für Brom und damit auch für Bromide, aus denen durch Oxydation mit Bleidioxyd und Essigsäure das Brom in Freiheit gesetzt werden kann, gefunden. Chloride beeinträchtigen den Nachweis zwar nicht, hingegen stören Jod und Jodide.

Die Reaktion kann bei Abwesenheit von Brom zum Nachweis von Jod und Jodiden verwendet werden. Wir erreichten dabei eine Erfassungsgrenze von 6 γ Jod und 60 γ Jodid. Es ist bei diesem Nachweis aber nicht zu entscheiden, ob es sich um Brom- oder Jodverbindungen oder um beide nebeneinander handelt.

Durch eine geringe Abänderung des Verfahrens gelang es uns, eine Nachweismöglichkeit für freies Chlor neben anderen Oxydationsmitteln zu schaffen, die lediglich die Abwesenheit der übrigen Halogene verlangt, eine Forderung, die in den meisten praktisch vorkommenden Fällen ohnedies erfüllt sein dürfte.

Tüpfelpapiere werden mit einer Lösung von 0,1 g Fluorescein in 100 ccm verdünnter Lauge und 0,5 bis 0,8 g Kaliumbromid getränkt und an der Luft getrocknet. Enthält der zu prüfende Dampf oder die zu untersuchende Flüssigkeit, die man in Form eines Tropfens auf das hellgelbe Reagenspapier bringt, freies Chlor, so färbt sich der Tüpfelfleck violettrosa. Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema:

$$Cl_2 + 2\,KBr \rightarrow Br_2 + 2\,KCl,$$



[1] *D. Ganassini*, Chem. Ztrbl. **1904 I**, 1172.

Das Chlor setzt aus dem KBr Brom in Freiheit, das mit dem Fluorescein in Eosin übergeht.

Mit dem nach der angegebenen Vorschrift hergestellten Tüpfelpapier sind 4 γ freies Chlor noch sehr gut zu erkennen und eine Erfassungsgrenze von 1 γ erreichbar. Ein derartiges Reagenspapier spricht auf Oxydationsmittel wie H_2O_2, HNO_3, HNO_2, Persalze, Chromate und Permanganat nicht an. Nur H_2O_2 bzw. Persalze geben in saurer und neutraler Lösung nach längerer Zeit einen schwach rosafarbenen Ring, der durch Zersetzung des H_2O_2 in der Kapillarzone entsteht, was aber zu keiner Verwechslung mit der Reaktion auf freies Chlor Anlaß geben kann. Wird die oben angegebene Konzentration nicht eingehalten, z. B. die Stärke der KBr-Lösung zu groß gewählt, so erfolgt durch das Oxydationsmittel infolge Ausscheidung von Brom Dunkelfärbung des Reagenspapieres und Zerstörung des Farbstoffes.

Chloride können beim Erhitzen mit Schwefelsäure und MnO_2 bei Abwesenheit von anderen Halogenen an der Entstehung von freiem Chlor erkannt werden. Ferner gestattet das Verfahren die Prüfung auf Anwesenheit von Halogenen im allgemeinen.

Mit dem beschriebenen Nachweis ist es möglich, Waschmittel, Bleichlaugen, medizinales Chloroform, Trinkwasser, Farbstoffe und Gase (z. B. in Fabriken bei der Prüfung undichter Stellen an Apparaturen) auf freies Chlor zu untersuchen.

Zusammenfassung.

Ein neuer Nachweis von reinem Chlor wird beschrieben, der mit Hilfe eines haltbaren Reagenspapieres als Tüpfelreaktion ausgeführt werden kann. Er beruht auf der doppelten Umsetzung von Cl_2 mit KBr zu freiem Brom und Erkennung des letzteren an seiner Umsetzung mit Fluorescein zu Eosin. Die Herstellung des Reagenspapieres durch Tränken mit Fluorescein-KBr-Lösung wird angegeben. Bei Gegenwart von anderem freiem Halogen ist der Nachweis nicht ausführbar. Oxydationsmittel hingegen zeigen im allgemeinen keine Reaktion. Das Verfahren ist daher dem Nachweis mit Jodkalistärkepapier vorzuziehen. Rotfärbung des hellgelben Reagenspapieres zeigt freies Chlor an. Chloride sind nachweisbar, wenn man daraus das Chlor in Freiheit setzt. Auf Anwesenheit von Brom ist selbstverständlich vorher mit nicht KBr-haltigem Fluoresceinpapier zu prüfen.

Summary.

A new test for free chlorine is described, which may be carried out as a spot reaction, by the aid of a stable test paper. It depends upon the interaction of chlorine with potassium bromide to form free bromine, which is then recognised by its action in converting fluorescein to eosin. The preparation of the test paper by impregnation with a fluorescein-potassium bromide solution is described. The test is not valid in the presence of other free halogens, but oxidising agents generally give no reaction, and the test

is therefore preferable to the one employing potassium iodide-starch paper. A red colouration of the bright yellow test paper indicates free chlorine. Chlorides can be detected after liberation of their chlorine. The presence of bromine must of course be previously tested for with fluorescein paper free from potassium bromide.

Résumé.

On décrit une nouvelle détermination du chlore à l'état libre, qu'on fait à l'aide d'un papier à réactions chimiques stable en forme d'une réaction à touche. Elle base sur la double décomposition de Cl_2 avec KBr à brome libre et la caractérisation de celui-ci par sa réaction avec fluoresceïne à éosine. La préparation du papier à réactions chimiques par imprégnation avec la solution de fluoresceïne — KBr est indiquée. Le dosage ne peut pas être exécuté en présence d'autre halogène libre. En général les oxydants ne montrent pas de réaction. Cette méthode doit être préferée à la détermination avec du papier d'amidon à iodure de potassium. Une coloration rouge du papier à réactions chimiques indique du chlore libre. Les chlorides peuvent être décelés, si l'on met en liberté la chlorine. La présence du brome est naturellement d'exclure d'abord à l'aide d'un papier à réactions chimiques ne pas contenant du KBr.

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Universität in Göttingen.

Zur Mikroanalyse niedrigsiedender Kohlenwasserstoffe mittels fraktionierter Desorption.*

Von

L. Küchler und **O. G. Weller.**

(Eingelangt am 7. Juli 1938.)

Einleitung.

Eine befriedigende Methode, die eine vollständige quantitative Analyse eines Gemisches niedrigsiedender, gesättigter und ungesättigter Kohlenwasserstoffe mit sehr kleinen Proben (größenordnungsmäßig 1 ccm Gas unter Normalbedingungen) gestattet, ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden.

Durch Aufnahme der Dampfdruck-Temperatur-Kurve[1] kann man mikroanalytisch ein Gemisch verschiedener Paraffine oder Olefine, aber nicht nebeneinander gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe mit der gleichen Zahl Kohlenstoffatome im Molekül (also z. B. Äthan und Äthylen) bestimmen. Außerdem hat diese Methode noch verschiedene praktische Nachteile. Zunächst einmal werden, obwohl die eigentliche Analyse nur mit 1 ccm Gas durchgeführt wird, insgesamt 5 bis 6 ccm (zum Füllen der Apparatur) benötigt. Ferner muß, da zur Entscheidung, ob ein bestimmter Kohlenwasserstoff in wenigen Prozenten oder überhaupt nicht vorhanden ist, sehr kleine Abweichungen vom glatten Verlauf der Kurve maßgebend sind, die Analyse oft mehrmals wiederholt werden, um Meßfehler auszuschließen. Außerdem ist es notwendig, die Temperatur des Arbeitsraumes während der Messung auf 1° konstant zu halten, da 95% des Gases sich außerhalb des Thermostaten befinden.

K. Peters und *W. Lohmar*[2] haben eine Methode beschrieben, die mit Hilfe von fraktionierter Desorption und darauffolgender Analyse der einzelnen Fraktionen, entweder durch Molgewichtsbestimmung mit der

* Diese Arbeit wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

[1] *J. J. S. Sebastian* und *G. C. Howard*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 172 (1934).

[2] *K. Peters* und *W. Lohmar*, Beih. des V. D. Ch., Nr. 25 (Auszug in: Angew. Chem. **50**, 40 [1937]).

Gaswaage oder durch Verbrennung, eine sehr genaue und verhältnismäßig rasche Analyse von Kohlenwasserstoffgemischen gestattet. Zu einer Analyse werden 20 bis 100 ccm Gas benötigt; die Umstellung der Desorption auf kleine Gasmengen ist prinzipiell einfach, doch ergeben sich wieder Schwierigkeiten, wenn es sich darum handelt, ein Gemisch verschiedener Paraffine *und* Olefine zu trennen. Wenn man nämlich die fraktionierte Desorption mit Hilfe der bequemen und fast überall zur Verfügung stehenden Temperaturbäder (flüssige Luft, festes Kohlendioxyd, Eis-Kochsalz, schmelzendes Eis und Wasser- bzw. Ölbäder verschiedener Temperatur) durchführen will, so enthält jede Fraktion zwei benachbarte Glieder einer homologen Reihe, also wenn gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe vorliegen, bis zu vier Kohlenwasserstoffen (z. B. Äthan, Äthylen und Propan, Propylen); in diesem Fall ist die Analyse der Fraktionen durch Molgewichtsbestimmung oder Verbrennung nicht mehr ausreichend. *Peters* und *Lohmann* desorbieren daher in zwei Proben, wobei alle ungesättigten Kohlenwasserstoffe vorher in der ersten mit aktivierter Schwefelsäure absorbiert, in der zweiten an einem Nickelkontakt hydriert werden. Bei kleinen Gasmengen ist aber eine solche Absorption der Olefine wohl kaum mit hinreichender Genauigkeit durchzuführen.

Eine andere Art der fraktionierten Desorption, die von *A. Eucken* und *H. Knick*[1] bereits zur mikroanalytischen Trennung niedrigsiedender Kohlenwasserstoffe angewandt wurde, erzielt mit ebenso einfachen Hilfsmitteln anscheinend eine bessere Trennschärfe. Bei dieser Methode erfolgt die Desorption nicht durch Abpumpen bei verschiedener Badtemperatur, sondern es wird das Adsorbens, das sich in einem sehr dünnen Röhrchen befindet, langsam aus einem auf konstanter Temperatur gehaltenen Kältebad heraus- und in einen auf etwa 250° C geheizten Ofen hineingezogen. Dabei wird das in der heißen Zone desorbierte Gas durch die noch gekühlte Adsorbensschicht getrieben, wo es Gelegenheit hat, seine schwer desorbierbaren (höher siedenden) Bestandteile gegen die dort adsorbierten, leichteren auszutauschen. Das schließlich das Adsorbens verlassende Gas besteht daher zuerst nur aus der am leichtesten desorbierbaren Komponente. Unter den entsprechend gewählten Versuchsbedingungen ist dann die Desorption eines Kohlenwasserstoffes praktisch beendet, ehe der Durchbruch des nächsten erfolgt. *Eucken* und *Knick* messen einfach fortlaufend die Menge des insgesamt desorbierten Gases sowie den Druck des abströmenden Gases, der sich zwischen dem Adsorbens und einer Drosselstelle (Feinregulierhahn) vor der Pumpe einstellt; dieser Druck hängt von der je Sekunde desorbierten Gasmenge ab und zeigt jedesmal einen Anstieg beim Durchbruch des nächsten Kohlenwasserstoffes. Auf diese Weise gelingt es z. B., Äthan und Äthylen mit einer Genauigkeit von

[1] *A. Eucken* und *H. Knick*, Brennstoff-Chem. **17**, 241 (1936).

etwa 1% nebeneinander zu bestimmen. Zu einer Analyse werden außerdem nur 1 bis 2 ccm Gas (unter Normalbedingungen) benötigt. In dieser von *Eucken* und *Knick* ausgearbeiteten Form eignet sich die Methode ausgezeichnet zur serienmäßigen Analyse von Gemischen, die zwei bis höchstens vier niedrigsiedende Kohlenwasserstoffe enthalten und deren qualitative Zusammensetzung stets die gleiche und bekannt ist. Bei komplizierteren Gemischen und vor allem dann, wenn die qualitative Zusammensetzung ebenfalls erst ermittelt werden muß, ist sie dagegen nicht anwendbar; denn erstens ist eine eindeutige Zuordnung der Knicke bzw. Maxima der Desorptionskurve zu bestimmten Kohlenwasserstoffen, also die qualitative Analyse, nicht möglich; zweitens ist in diesem Falle die genaue Festlegung der Knicke für *jeden einzelnen* Kohlenwasserstoff sehr schwierig und oft gar nicht möglich, da sich die Desorption verschiedener Kohlenwasserstoffe stärker überlagert.

Arbeitsweise und Versuchseinrichtung.

a) Prinzip der Methode.

Die geschilderten Schwierigkeiten bzw. Vorteile der einzelnen Methoden führten zu dem im folgenden beschriebenen Verfahren, das die Mikroanalyse eines Gemisches gesättigter und ungesättigter, niedrigsiedender Kohlenwasserstoffe mit verhältnismäßig einfachen Mitteln und einer für die meisten Zwecke weitaus ausreichenden Genauigkeit gestattet.

Zuerst werden die mit flüssiger Luft nicht kondensierbaren Gase (CH_4 und H_2) abgetrennt und gesondert durch Verbrennung analysiert. Dann werden die zwei bis vier Kohlenstoffatome enthaltenden Kohlenwasserstoffe nach der Verdrängungsmethode desorbiert, wobei die desorbierten Gase aber nicht wie bei *Eucken* und *Knick* mit einer Quecksilberdampfstrahlpumpe in einen großen Kolben gepumpt werden, sondern es werden die einzelnen Fraktionen in mehreren mit flüssiger Luft gekühlten Vorlagen kondensiert. Als Zeichen dafür, daß die Desorption des nächsten Kohlenwasserstoffes einsetzt, dient wie bei *Eucken* und *Knick* der Druckanstieg im abströmenden Gas. Bei Verwendung eines Hitzdrahtmanometers kann man diesen Druckanstieg sehr einfach am Ausschlag des Galvanometers feststellen und dann, wie unten näher beschrieben, die Vorlage wechseln. Die einzelnen Fraktionen enthalten 1 bis 2 Kohlenwasserstoffe (bei komplizierten Gemischen muß man, um dieses zu erreichen, eventuell einige Fraktionen nochmals desorbieren) und betragen nur wenige Zehntel-, unter Umständen auch bloß Hundertstelkubikzentimeter (unter Normalbedingungen). Zur Identifizierung bzw. Analyse so kleiner Gasmengen wurde die Verbrennung an einer glühenden Platinspirale (nach Zumischen von Sauerstoff) angewandt, die sich in der weiter unten beschriebenen Form gut bewährte.

b) Die Apparatur.

Abb. 1 zeigt die verwendete Apparatur. Durch den Hahn *1* wird das zu analysierende Gas eingelassen; hier ist also z. B. das Reaktionsgefäß

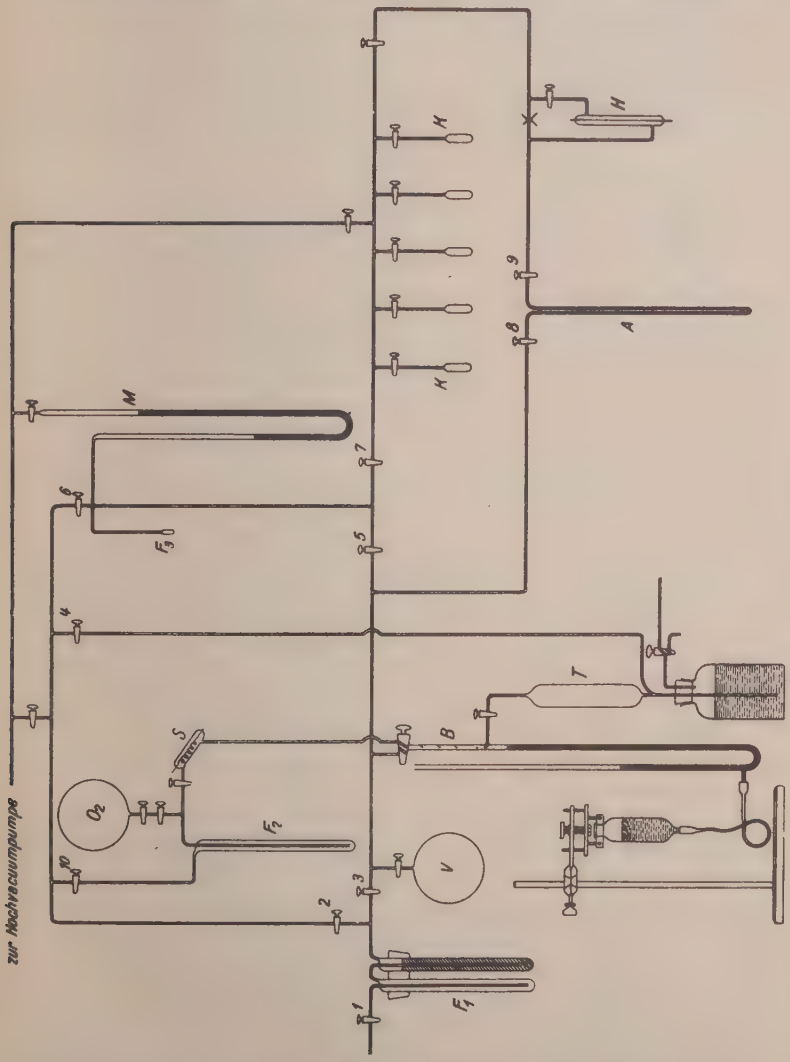


Abb. 1. Apparatur.

angeschlossen, wenn es sich darum handelt, die Zerfallsprodukte eines Kohlenwasserstoffes zu analysieren. In den Fallen F_1 werden alle kondensierbaren Anteile mit abgepumpter flüssiger Luft ausgefroren und so von

den nicht kondensierbaren (CH_4 und H_2) getrennt. Zu diesem Zweck stecken die beiden Fallen dicht nebeneinander in einem Gummistopfen, der auf eine *Dewar*-Flasche paßt und eine weitere Bohrung zum Abpumpen der flüssigen Luft enthält; die zweite Falle ist mit Glaswolle gefüllt. Zum Abpumpen der nicht kondensierbaren Gase dient die mit Wasserstrahlvakuum betriebene *Toepler*-Pumpe *T*; die Leitungsführung ist so gewählt, daß man mit dieser Pumpe Gase aus den verschiedenen Teilen der Apparatur in die Bürette *B* oder durch diese Bürette in die Leitung zwischen den Hähnen *3*, *5* und *8*, bzw. in das Hilfsvolumen *V* pumpen kann.

Kleine Gasmengen werden in der Bürette gemessen, die vor allem zur Volumsmessung bei der Verbrennungsanalyse dient. In dieser Mikrobürette wird bei konstantem Volumen der Druck gemessen; zu diesem Zweck sind drei Glasspitzen eingeschmolzen entsprechend einem Gasvolumen von 0,8, 2 und 5 ccm, auf die der Quecksilbermeniskus genau eingestellt wird; dazu ist das Niveaugefäß mittels einer Schraube fein verstellbar. Auf diese Weise kann man bequem bis auf 0,001 ccm genau ablesen. Zum Abmessen größerer Gasmengen ist das Volumen zwischen den Hähnen *5*, *6*, *7* und *3*, *6*, *7*, *8* sowie das Hilfsvolumen *V* für verschiedene Stellungen des Manometers *M* geeicht. Das Hilfsvolumen *V* wird nur benötigt, wenn es sich darum handelt, einen geringen Prozentgehalt von Kohlenwasserstoffen in Wasserstoff oder Stickstoff zu bestimmen.

Zur fraktionierten Desorption dienen das 40 cm lange und nur 1 bis 2 mm weite U-Röhrchen *A*, dessen linker Schenkel bis zur Hälfte mit dem Adsorbens gefüllt ist, das Hitzdrahtmanometer *H* und die Vorlagen *K*. Die Verbrennung erfolgt in dem Verbrennungsgefäß *S*, das Ausfrieren des gebildeten Wassers bzw. Kohlendioxyds in der Falle F_2. Einzelheiten über die Durchführung der fraktionierten Desorption und der Verbrennungsanalyse sind in den beiden nächsten Abschnitten angegeben.

c) Die fraktionierte Desorption.

Die in F_1 kondensierten Kohlenwasserstoffe werden nach Entfernen der flüssigen Luft von F_1 durch Kühlen von F_3 mit flüssiger Luft in das Meßvolumen zwischen den Hähnen *5*, *6*, *7* (bei größeren Mengen zwischen *3*, *6*, *7*, *8*) gebracht. Dabei wird F_1 mit festem Kohlendioxyd-Methanol gekühlt, um eventuell vorhandene höhere Kohlenwasserstoffe in F_1 zurückzuhalten. Nachdem der Druck des Gases am Manometer *M* mittels einer Spiegelglasskala oder eines Kathetometers gemessen worden ist, wird entweder das ganze oder ein gemessener Teil an dem im unteren Teil des linken Schenkels des U-Röhrchens *A* befindlichen Adsorbens adsorbiert. Als Adsorbens hat sich am besten die Noritkohle „Suprasorbon" bewährt; es muß besonders auf möglichst gleichmäßige Korngröße (mehrfach aussieben) und Füllung der Kohle geachtet werden.

Zunächst befindet sich die untere Hälfte des U-Röhrchens mit dem Adsorbens in einem Kältebad und die obere in einem auf 250° geheizten Ofen; Kältebad und Ofen hängen starr miteinander verbunden an der Kette eines Uhrwerks.[1] Als Kältebad haben wir wegen vieler praktischer Vorteile nicht flüssiges Äthylen, sondern festes Kohlendioxyd-Methanol verwendet. Allerdings ist bei —80° eine Trennung von Äthylen und Äthan nicht durchführbar. Darauf kann aber verzichtet werden, da das prozentuelle Verhältnis dieser beiden Gase aus der Verbrennungsanalyse der beide enthaltenden ersten Fraktion hervorgeht.

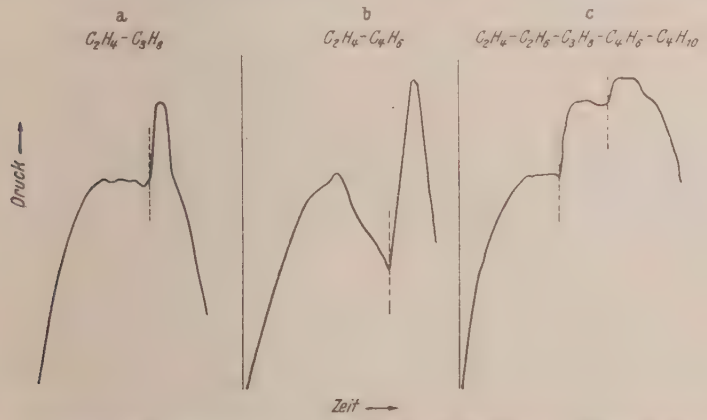


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf des Druckes im abströmenden Gas während der Desorption bei einigen Gasmischungen.

Wenn alles adsorbiert ist (die vollständige Adsorption dauert etwa 20 bis 30 Minuten), wird Hahn *8* geschlossen, Hahn *9* geöffnet und Kältebad und Ofen durch das Uhrwerk langsam gesenkt, so daß sich in 30 bis 60 Minuten der Ofen vollständig über die Adsorbensschicht geschoben hat. Der Druck des vom Adsorbens zur Vorlage strömenden Gases wird mit dem Hitzdrahtmanometer *H* gemessen. Um bei einem Ansteigen des Druckes (beobachtet am Galvanometerausschlag!) rasch die Vorlage wechseln zu können, sind von Anfang an mehrere Vorlagen mit flüssiger Luft gekühlt, so daß zum Wechseln der Vorlage nur ein Hahn geschlossen und ein anderer geöffnet werden muß.

In Abb. 2 sind einige typische Kurven für den Druckverlauf während der Desorption aufgetragen. Die strichlierten Linien bezeichnen die Zeitpunkte, in denen die Vorlage gewechselt wurde. Liegen die Siedepunkte der Bestandteile des zu analysierenden Gemisches weit genug

[1] Ofen, Kältebad und Uhrwerk sind in Abb. 1 nicht gezeichnet; s. dazu *Eucken* und *Knick*, a. a. O.

auseinander (*b*), so ist die Trennung sehr scharf. Dagegen sieht man bei der Analyse *c*, daß, wie schon erwähnt, unter den angewandten Bedingungen Äthan und Äthylen durch Desorption nicht zu trennen sind; sie bilden zusammen die erste Fraktion (s. die Zahlen der Tafel 3, die sich auf diese Analyse beziehen). Bei einem Gemisch von 5 und mehr Kohlenwasserstoffen kann es vorkommen, daß eine bei einer einmaligen Desorption erhaltene Fraktion mehr als zwei Bestandteile enthält. Hat man keinerlei Anhaltspunkte über die qualitative Zusammensetzung der Mischung, so wird man sich bei jeder Fraktion, deren Verbrennungsanalyse (die man ja mit einem Bruchteil der ganzen Menge ausführen kann) ergibt, daß sie nicht aus einem reinen Kohlenwasserstoff, sondern aus einem Gemisch besteht, durch nochmalige Desorption überzeugen, daß das Gemisch nicht mehr als zwei Bestandteile enthält. Dabei ist es gar nicht unbedingt notwendig, die zweite Trennung bei einem deutlichen Knick in der Desorptionskurve auszuführen, es genügt dazu, das desorbierte Gas in drei etwa gleich großen Fraktionen aufzufangen und diese zu verbrennen. Es sei auch noch darauf hingewiesen, daß man auch ein Gemisch von drei Bestandteilen durch Verbrennung bestimmen kann, wenn man die qualitative Zusammensetzung kennt. Enthält z. B. die erste Fraktion wenige Prozent eines C_3-Kohlenwasserstoffes und besteht die zweite aus reinem Propylen, dann kann die erste nur Äthan, Äthylen und Propylen enthalten und es kann ihre Zusammensetzung aus der Verbrennungsanalyse exakt ermittelt werden. In einem solchen Fall erübrigt sich eine zweite Desorption.

d) Die Verbrennungsanalyse.

Die Verbrennung erfolgt nach Zumischen von Sauerstoff an einer elektrisch auf Rotglut geheizten Platinspirale (*S*).

Zunächst wird eine Probe des zu verbrennenden Gases (0,5 bis 0,02 ccm unter Normalbedingungen) mit der *Toepler*-Pumpe in die Bürette gepumpt und dort gemessen (p_1). Hierauf wird aus dem Vorratskolben (O_2) Sauerstoff (etwa die 1,5- bis 2fache Menge der auf Grund der Reaktionsgleichung notwendigen) hinzugepumpt und der Druck der Mischung (p_2) gemessen. Unmittelbar oberhalb des Hahnes der Bürette sitzt das Verbrennungsröhrchen mit der eingeschmolzenen Platinspirale, in dem nun die Verbrennung erfolgt. Die Verbindungskapillare zwischen Bürette und Verbrennungsröhrchen steht zweckmäßig senkrecht und setzt an der tiefsten Stelle des letzteren an, so daß Quecksilber, das beim Einfüllen des Gases mit in das Verbrennungsröhrchen gelangt, leicht in die Bürette zurückgelassen werden kann.

Die Verbrennung aller Kohlenwasserstoffe erfolgt glatt in einigen Sekunden, doch wird man besonders bei den niedrigsten die Spirale

1 bis 2 Minuten auf Rotglut halten,[1] um die Verbrennung sicher quantitativ zu beenden. Nun werden die Verbrennungsprodukte und der restliche Sauerstoff durch die Falle F_2, die auf $-80°$ gekühlt ist, zurück in die Bürette gepumpt und die Druckabnahme $(p_2 - p_3)$ gemessen. Diese setzt sich zusammen aus der Änderung der Molzahl bei der Verbrennung und dem Entzug des gebildeten Wassers, das in der Falle ausgefroren wurde. Der Rest wird auf dem gleichen Wege (*10*, *4*) nochmals durch die Falle F_2, die jetzt mit flüssiger Luft gekühlt ist, gepumpt; die zweite Druckabnahme $(p_3 - p_4)$ entspricht dem Ausfrieren des gebildeten Kohlendioxyds. Zur Auswertung dividiert man am einfachsten die beiden Druckabnahmen durch den Druck des verbrannten Gases

$$\frac{p_2 - p_3}{p_1} = \Delta_1, \qquad \frac{p_3 - p_4}{p_1} = \Delta_2.$$

Durch die Werte von Δ_1 und Δ_2 ist ein reiner Kohlenwasserstoff sowie ein Gemisch von zwei (bzw. auch drei, s. oben) Kohlenwasserstoffen eindeutig gekennzeichnet. Den theoretischen Wert von Δ_1 und Δ_2 für jeden einzelnen Kohlenwasserstoff erhält man sofort aus der Gleichung für die Verbrennungsreaktion.

Ergebnisse einiger Probeanalysen.

In Tabelle I sind die Ergebnisse einiger Verbrennungsanalysen reiner Kohlenwasserstoffe und binärer Gemische zusammengestellt, die mit

Tabelle I. Verbrennungsanalysen verschiedener Kohlenwasserstoffe und binärer Gemische.

	Δ_1		Δ_2	
	gefunden	theoretisch	gefunden	theoretisch
C_2H_4	2,00	2,00	2,01	2,00
C_2H_6	2,49	2,50	2,00	2,00
C_3H_8	3,01	3,00	2,99	3,00
C_4H_6	2,50	2,50	3,98	4,00
C_4H_{10}	3,50	3,50	2,99	4,00
C_2H_4 (47,8%) + C_2H_6	2,24	2,24	2,01	2,00
C_2H_4 (45,3%) + C_3H_8	2,44	2,45	2,45	2,45
C_2H_4 (59,9%) + C_3H_8	2,59	2,60	2,61	2,60

Proben von 0,1 ccm (unter Normalbedingungen) ausgeführt wurden. Aus der Gegenüberstellung der gefundenen und berechneten Werte für

[1] Auf alle Fälle muß vermieden werden, daß dabei das Verbrennungsröhrchen zu heiß wird, da sonst falsche Resultate erhalten werden (O_2-Verbrauch durch Hahnfett oder Quecksilberdampf). Deshalb ist es besser, die Spirale mehrmals 20 bis 30 Sekunden zu heizen.

die beiden Volumsabnahmen (Δ_1 und Δ_2) geht unmittelbar die erreichbare Genauigkeit hervor. Sie beträgt bei einer Probe von 0,1 ccm etwa 2%.

Die Tabellen II und III enthalten zwei Beispiele vollständiger Analysen von Gemischen mit drei bzw. fünf Bestandteilen. In jeder der beiden Tabellen ist das Volumen (unter Normalbedingungen) der analysierten Probe und der einzelnen durch Desorption erhaltenen Fraktionen (I, II, III), sowie deren prozentuelle Zusammensetzung angegeben. Auch hier erhält man aus den Zahlen unmittelbar ein Bild von der Genauigkeit der Analysen.

Tabelle II. Analyse einer Mischung von Äthylen, Propan und Butan.

		C_2H_4	C_3H_8	C_4H_{10}	Summe
gegeben		39,4	32,8	27,8	100,0
analysiert: 1,25 ccm	I 0,49$_7$ ccm	38,$_7$	1,$_0$		39,$_7$
	II 0,44$_2$ „		32,$_9$	2,$_5$	35,$_4$
	III 0,31$_2$ „			24,$_9$	24,$_9$
gefunden (Summe)		38,$_7$	33,$_9$	27,$_4$	100,0

Tabelle III. Analyse einer Mischung von Äthylen, Äthan, Propan, Butan und Butadien.

		C_2H_4	C_2H_6	C_3H_8	C_4H_{10}	C_4H_6	Summe
gegeben		4,9	30,3	32,1	17,0	15,7	100,0
analysiert: 1,81 ccm	I 0,63 ccm	4,$_9$	29,$_6$	0,$_3$			34,$_8$
	II 0,58 „			31,$_4$	0,$_7$		32,$_1$
	III 0,60 „				17,$_2$	15,$_9$	33,$_1$
gefunden (Summe)		4,$_9$	29,$_6$	31,$_7$	17,$_9$	15,$_9$	100,0

Zusammenfassung.

Es wird eine Mikromethode zur Analyse von Gemischen niedrigsiedender, gesättigter und ungesättigter Kohlenwasserstoffe beschrieben. Die Trennung des Gemisches erfolgt durch fraktionierte Desorption nach einer Verdrängungsmethode und die Identifizierung bzw. Analyse der einzelnen Fraktionen durch eine Mikroverbrennung. Zu einer Analyse wird ungefähr 1 ccm Gas (unter Normalbedingungen) benötigt. Die Genauigkeit beträgt etwa 1%.

Dem Direktor des Institutes, Herrn Professor Dr. *A. Eucken* sind wir für die Unterstützung unserer Arbeit durch viele wertvolle Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

Summary.

A micro-method is described for the analysis of saturated and unsaturated hydrocarbons of low boiling point. The separation of the mixture is effected by fractional desorption according to a displacement method, followed by identification and analysis of the individual fractions by micro-combustion. About 1 ml. of gas is required for an analysis, and an accuracy of approximately 1% is attainable.

Résumé.

On décrit une micro-méthode pour l'analyse des mélanges de hydrocarbones à bas point d'ebullition saturés et non-saturés. La séparation du mélange se fait par désorption fractionnée après une méthode de déplacement et l'identification ou l'analyse des diverses fractions par micro-combustion. On a besoin d'un cm^3 de gaze pour une analyse. La précision est environs 1%.

The Institute of Paper Chemistry, Appleton, Wisconsin, U. S. A.

Micro Extraction Apparatus and Separatory Funnel

By

B. L. Browning

(Eingelangt am 18. Juli 1938.)

In the chemical analysis of specks isolated from pulp and paper, it has been found necessary to construct new apparatus for carrying out the necessary extractions with organic solvents. The details of construction and use, to which only brief reference has previously been made[1] are given here.

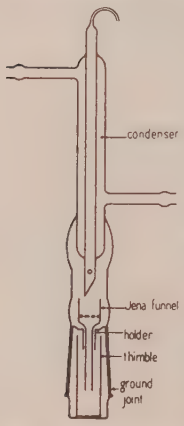


Fig. 1. Micro Extractor

Micro Extractor

The extractor is shown in cross-section in Fig. 1. It is essentially similar to an extractor described by *Titus* and *Meloche*,[2] but has been found more satisfactory in pulp and paper work with regard to the manner of holding the material to be extracted and the vessel which contains the extracting liquid. It is constructed from a No. 20 standard taper ground glass joint, with the condenser sealed into the upper part of the joint. The material to be extracted is placed in a 30 a G 3 Jena fritted glass funnel, into which the condensed solvent drips. An intermittent extraction is obtained by so adjusting the distillation rate of the solvent that one drop passes through the funnel before the next drop falls into it. The funnel is held in place by a glass support with small lugs which fit over the top of the lower glass joint.

The solvent is placed in flat-bottomed glass thimbles 10 mm. inside diameter and 45 mm. total height. One milliliter of solvent is sufficient for the extraction. After extraction is complete, the condenser is removed and the solvent quickly evaporates. Either the extracted material in the

[1] *B. L. Browning*, Paper Trade Journ. **105**, Nr. 10, 38 (Sept. 2, 1937).

[2] *L. Titus* and *V. W. Meloche*, Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **5**, 286 (1933).

Jena funnel or the extract in the glass thimble may be weighed. Thimbles of lesser height are unsatisfactory, since rosin solutions are inclined to creep over the top.

There is some loss of solvent due to condensation and leakage around the ground glass joint. This may be reduced by regrinding of the joints or by heating the joint with electric resistance wire (see footnote 2, p. 54). For periods of extraction up to one hour, the original amount of solvent is sufficient without these aids.

Refluxing, such as may be required in saponification of the extracted residue after weighing, may be accomplished by using the apparatus without insertion of the Jena glass funnel.

Micro Separatory Funnel

Separatory funnels of small capacity are available in several forms. However, in handling very small quantities of liquids it is desirable to avoid the use of glass stopcocks and to separate immiscible liquids very sharply at their boundary. For this purpose, the apparatus shown in Fig. 2 has been constructed. In use, all liquids are removed or inserted through the tip. A rubber tube is attached to the top and the liquid movement controlled by pressure or suction of the mouth.

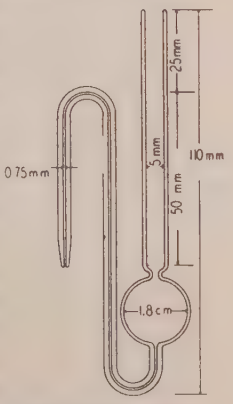


Fig. 2. Micro-Separatory Funnel

The use of the funnel may be illustrated by the extraction of a water solution with ether. The water solution is introduced by applying gentle suction through the rubber tube, and the ether (0,2–0,5 ml.) is introduced similarly. Extraction is obtained by rotating or shaking in the usual manner. After the liquid layers become clear and distinct, the water layer is removed by applying gentle pressure at the rubber tube. The position of the water-ether boundary may usually be observed without difficulty, and the water is removed until the boundary just reaches the tip of the capillary. By touching the tip to the side of the receiving vessel, the water is removed with no loss of ether. On releasing the pressure the ether returns to the bulb and may, in a similar way, be treated with additional portions of the aqueous solution and then washed with portions of water. After the final washing, the ether is transferred to a weighed vessel and the funnel rinsed with 0,1–0,2 ml. of ether to remove the last traces of soluble material.

The funnel is used conveniently with the extraction thimbles described, and liquids are readily transferred from the thimble to the funnel, or the reverse. Operations such as esterification, saponification, and extraction may be carried out with 1–5 mg. of material.

Contribution from the Chemical Laboratories of New York University

An Apparatus for Conducting Reactions and Extractions in Special Atmospheres

By

F. W. van Straten and **W. F. Ehret**

(Eingelangt am 19. Juli 1938.)

The apparatus herein described was constructed by the authors to aid in the analysis of finely divided complex mixtures containing the metals copper and zinc, and their oxides. The procedure consisted in allowing air-free ammonia water to percolate through and react with the mixture in an atmosphere of ammonia, whereby the solution of the metals due to atmospheric oxygen was avoided and a solution of the oxides was effected. This solution was then removed from the unattacked metal by simple filtration. Although the above mixture presents unusual difficulties due to secondary reactions, the authors believe that the apparatus may have considerable practical application in the analysis of simpler mixtures such as zinc dusts and copper-copper oxide pigments. With but slight alterations, usually merely the interchanging of gas-supply cylinders (NH_3, SO_2, CO_2, etc.), the apparatus can be used for a wide variety of reactions and leachings requiring special, reactive or inert atmospheres.

Description

In general, the reagent or solvent will be placed in the 70 ml. separatory funnel (F_1, Fig. 1) and the substance that undergoes reaction or extraction will be placed in the micro filter tube F_3. The reaction product or leachings are caught in the micro beaker *Be*. The rest of the apparatus consists of two-way stopcock *S* with gas inlet at *I*, mercury manometer and pressure buffer *M*, Gooch filter funnel F_2, 250 ml. suction flask *SF*, micro screw clamps C_1, C_2 and C_3, bubble counters and air seals B_1 and B_2, wire handle *W* which is attached to a cork that has been hollowed out to act as a base and support for the micro beaker. The latter is removed from the apparatus by grasping the handle and raising cork and beaker. Rubber tubing is 8 mm. external diameter, 2 mm. internal diameter; glass tubing is 3,5 mm. external diameter, 1,5 mm. internal diameter.

The chief advantages of this apparatus over others the authors have used are: (1) dismantling and cleaning is performed rapidly, (2) the parts are all standard equipment in any well-stocked analytical laboratory, (3) no glass blowing is required, (4) the reagent or leaching solution is conditioned (made air-free, etc.) *in situ*, (5) the rate of reaction or leaching is under close control at all times because of the regulation afforded by (*a*) the stopcock governing the outflow of solution from the separatory funnel and (*b*) the pressure difference between vessels F_2 and SF, this difference determining the rate of filtration into beaker *Be*. The manner of manipulating the stopcock S and the clamps C_2 and C_3 in order to establish a desirable pressure difference is quickly acquired and is described briefly in the following paragraph.

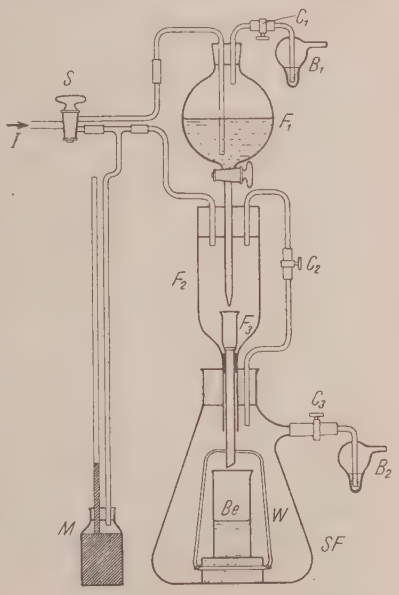


Fig. 1

General Procedure

The material which is to undergo reaction or extraction is weighed into sintered glass filter tube F_3 and the latter is fitted snugly into the stem of funnel F_2 by slipping a short piece of rubber tubing over the stem of F_3. Funnel F_1 and the several glass tubes are fitted into place, connections between tubes being made with rubber tubing. The reagent or leaching solution is placed in funnel F_1 which is then stoppered as shown. Stopcock S is turned so as to permit the entering gas to flush all air out of F_2 and SF; this is accomplished with clamps C_2 and C_3 open. After 10–15 minutes S, C_2 and C_3 are closed. Stopcock S is then turned to allow gas to flow through the solution in F_1 and out through seal B_1. This is continued for from 15 to 30 minutes to flush out all air and saturate the reagent with the gas used. S and C_1 are then closed. By carefully opening the stopcock of the separatory funnel a controlled amount of solution is allowed to flow down upon the material in the filter tube. If the pressure in F_1 is not sufficient to cause flow, stopcock S is opened slightly to increase the pressure upon the solution in F_1. When enough liquid has dripped into the filter tube, the stopcock of the funnel is closed. Usually, a reaction or leaching operation will require several subsequent fillings of the filter tube. The speed with which the solution filters through F_3 is determined by the pressure of gas admitted to F_2 through S and also by the setting of the screw clamp C_2. When the latter is open there

is a minimum rate of flow, when closed, a maximum. Occasionally C_3 must also be opened to allow the escape of gas from *SF* so that a pressure difference may be maintained between F_2 and *SF*. When the reaction and leaching are completed, the apparatus is opened and the micro beaker is lifted out by means of the wire handle *W*. The contents of the filter tube or beaker may then be dried, weighed or further analyzed, as the case may be.

Results

Typical of results obtainable with this apparatus are the following (Table I), made upon synthetic mixtures of finely divided copper, zinc and cupric oxide which were leached with air-free ammonia water. It will be noticed that copper and zinc are practically insoluble in the leaching reagent and that cupric oxide, although dissolved, is quantitatively converted to copper by the excess of zinc present in the mixture. This accounts for the absence of copper in the filtrate; the amount of zinc in the latter is equivalent to the cupric oxide used.

Table I.

	1	2	3
Cu weighed in...	0,16775 g.	0,17240 g.	0,14940 g.
Zn weighed in...	0,08814 „	0,08490 „	0,08172 „
CuO weighed in .	—	—	0,03562 „
Cu in leachings..	0,0000	0,0000	0,0000
Zn in leachings..	0,00055 „	0,00047 „	0,02855 „

Recently there has come to the attention of the authors a new microchemical method for the determination of sulphur[1] in which the element is converted to silver sulphate on the surface of silver pellets. The sulphate is then leached off with ammonium hydroxide in air and the silver content of the solution is determined electrolytically. From this the amount of sulfur is calculated. The author states that a blank must be run and we believe that this arises largely because of solution of silver by aerated ammonium hydroxide. The extent of the blank should depend, not only upon the surface of the silver and the concentration of the ammonium hydroxyde as the author states, but also upon the time required for leaching. It is suggested that solution of the silver sulphate in a device such as described in this article would eliminate the need for a blank.

It almost goes without saying that the dimensions of the apparatus as above given may be increased for macro work and diminished for micro determinations. The authors employed it for quantities usually considered in the semi-micro range, i. e., 20–30 mgs.

[1] *E. W. D. Huffman*, Abstracts of papers delivered before *Microchemical Section* of the *American Chemical Society*, Dallas meeting, April 1938; see Mikrochemie **24**, 218 (1938); Mikrochim. Acta **3**, 280 (1938).

Aus dem II. Chemischen Universitätslaboratorium in Wien.
Vorstand: Prof. Dr. *E. Späth.*

Bestandteile der Klatschmohnblüten.

Von

L. Schmid und W. Hosse.

(Eingelangt am 22. Juli 1938.)

Für die Gewinnung und Untersuchung des Mohnalkaloids Rhoeadin wurden getrocknete Blütenblätter von *Papaver rhoeas* mit Chloroform extrahiert und den Chloroformlösungen der Basenanteil mittels Weinsäure und schließlich durch Salzsäure entzogen; im Chloroform waren das Öl und die unverseifbaren Bestandteile der Blüten zurückgeblieben, von denen im folgenden die Rede sein soll. Die alkaloidfreien Rückstände überließ uns Herr Prof. *Späth* in dankenswerter Weise. Sie wurden mit alkoholischer Lauge verseift und durch Petroläther in Unverseifbares I und Seifen II zerlegt. I ist im gewöhnlichen Vakuum restlos destillierbar, woraus folgt, daß kein Sterin vorliegen kann; auch im Rohauszug war Sterin weder durch Digitonin noch durch Farbreaktionen nachzuweisen. Eine Analyse, die als Summe der Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte 98,3% ergab, ließ erkennen, daß ein Gemenge von Kohlenwasserstoffen mit wenig eines sauerstoffhaltigen Bestandteiles vorliegen müsse.

Eine erste rohe Trennung erzielte man durch Zusatz von Alkohol zu einer Ätherlösung von I, wobei sich eine schwerlösliche Fraktion „A" abschied, während eine lösliche Fraktion „B" in der Mutterlauge blieb. Beide Fraktionen chromatographierten wir aus Benzin-Benzol-Lösung an aktiviertem Aluminiumoxyd; von „A" blieben etwa 2% als scharf abgegrenzte Zone, die im Hg-Licht blau fluorescierte, am Aluminiumoxyd haften, während die Hauptmenge in das Filtrat lief. Die als Zone haftende Substanz ließ sich leicht eluieren und erwies sich nach Vakuumdestillation zufolge Analyse, Schmelzpunkt und Molekulargewichtsbestimmung als ein Alkohol der Paraffinreihe von der wahrscheinlichen Formel $C_{26}H_{54}O$.

Aus dem Filtrat des Chromatogramms war ein Kristallprodukt zu erhalten, dessen Analysen noch eine geringe Verunreinigung eines Kohlenwasserstoffes durch eine sauerstoffhaltige Verbindung annehmen ließen. Ein Versuch, durch Essigsäureanhydrid Veresterbares abzu-

trennen, ermöglichte die Abscheidung eines scharf bei 61,5° schmelzenden Paraffinkohlenwasserstoffes. Da das genaue Verhältnis von Kohlenstoff zu Wasserstoff bei Kohlenwasserstoffen nur sehr unvollkommen aus Verbrennungen abzuleiten ist, sollten Molekulargewichtsbestimmungen über die Teilchengröße Aussagen machen; diese Werte streuten um $C_{28}H_{58}$ und $C_{29}H_{60}$; eine sichere Entscheidung brachte aber erst eine röntgenoptische Untersuchung, die für $C_{27}H_{56}$ sprach. Man muß also bei den kryoskopischen Messungen in geringem Maße Assoziation annehmen.

Fraktion B.

Nach Verdampfen des Lösungsmittels blieb ein kristallinischer Rückstand, dessen Analysen ebenfalls auf Paraffine schließen ließen. Durch wiederholte Chromatogramme, bei denen — da keine Fluorescenz zu beobachten war — willkürlich getrennt werden mußte, konnte man feststellen, daß ein Gemisch von Paraffinkohlenwasserstoffen vorlag. Isolierbar waren ein bei 49,5° schmelzendes Produkt und in geringer Menge zwei Fraktionen von den Schmelzpunkten 52° und 60,5°. Der bei 49,5° schmelzende Körper bildet die Hauptmenge von „B". Von ihm und den beiden Nebenprodukten kann man nur sagen, daß sie Paraffine sind. Bemerkenswert erscheint das Fehlen von Phytosterinen sowie die Tatsache, daß ein Hauptbestandteil des Gemenges die ungerade Zahl von 27 Kohlenstoffatomen hat. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß das Hentriakontan $C_{31}H_{64}$ in *Tagetes*[1] und in den Blüten von *Linaria vulgaris*[2] aufgefunden wurde.

Bei der Untersuchung des verseifbaren Teiles der Klatschmohnblüten waren Palmitin-, Stearin- und Ölsäure sicher nachzuweisen; in kleiner Menge ist eine kohlenstoffreichere Säure beigemischt, für die auf Grund von Methoxylbestimmungen eine Formel von $C_{20}H_{40}O_2$ wahrscheinlich ist.

Beschreibung der Versuche.

Es kamen insgesamt 31 kg an der Luft getrocknete Blüten von *Papaver rhoeas* (Klatschmohn), geliefert von der Heilmittelstelle, Wien, zur Aufarbeitung.[3] In einer Charge wurden 6 kg bewältigt. In einem Metallbehälter wurde trockenes Ammoniakgas auf die Blüten geleitet, bis der Ammoniakgeruch deutlich zu verspüren war; die Blätter erwärmten sich und nahmen braune Farbe an. Sie blieben, mit Chloroform überschichtet, 24 Stunden stehen. Nach dem Filtrieren wurde ein zweitesmal mit Chloroform extrahiert; die Chloroformauszüge wurden nach

[1] *R. Kuhn, A. Winterstein* und *E. Lederer*, Ztschr. physiol. Chem. **197**, 141 (1931).

[2] *L. Schmid* und *W. Rumpel*, Monatsh. Chem. **60**, 9 (1932).

[3] *E. Späth, L. Schmid* und *H. Sternberg*, Monatsh. Chem. **68**, 33 (1936).

Verdünnen mit Äther durch Ausschütteln mit 5%iger Weinsäure und schließlich mit 2%iger Salzsäure vom Alkaloid befreit und dann zur Trockene gebracht.

Verseifung.

100 g des Chloroformrückstandes wurden mit 3 l einer 10%igen alkoholischen Kalilauge 24 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt; nach Verdünnen mit Wasser auf eine Alkoholkonzentration von 50% wurde 24 Stunden im Soxleth mit Petroläther extrahiert, der Petrolätherauszug zweimal mit je 100 ccm Wasser ausgeschüttelt und mit Natriumchlorid getrocknet. Der Petrolätherrückstand bildete nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol weiße Kristalle vom Schmelzpunkt 56°: Ausbeute 3 g. Bei der Destillation eines Teiles davon ging bei 12 mm und 240 bis 260° Badtemperatur alles über.

4,035 mg Einwaage gaben 12,385 mg CO_2, 5,260 mg H_2O.
Gefunden: C 83,71%, H 14,59%.

Nun wurde das Ganze in 100 ccm absolutem Äther gelöst, mit 150 ccm absolutem Alkohol bis zur bleibenden Fällung versetzt und filtriert. Das Filtrat hinterließ nach Abdampfen der Äther-Alkohol-Mischung Kristalle. Nach Wiederholung dieser Behandlung erhielt man eine in Alkohol schwerlösliche Fraktion „A" und eine leichtlösliche „B".

Untersuchung der Fraktion A.

0,3 g „A" wurden in 8 ccm Benzol-Petroläther 1 : 10 gelöst und auf aktiviertes Aluminiumoxyd gegossen (Höhe der Säule 20 cm, Breite 2 cm). Es bildete sich eine 2 mm schmale Zone „Z" (0,05 g), die im Quecksilberlicht blau fluorescierte, während die Hauptmenge überhaupt nicht haften blieb und ins Filtrat rann. „Z" löst sich leicht in einer warmen Benzol-Benzin-Mischung 1 : 10 und destilliert bei 0,2 mm und 170° Luftbadtemperatur. Fp. 75,5°.

2,143 mg Einwaage gaben 6,433 mg CO_2, 2,781 mg H_2O.
Gefunden: C 81,87%, H 14,52%.
Berechnet für $C_{26}H_{54}O$: C 81,59%, H 14,23%. Mol.-Gew. 382.
Mol.-Gew. gefunden: 392 bzw. 384,6 nach der Methode von *Rast* in Kampfer.

Das beim Chromatogramm erhaltene Filtrat ergab nach dem Eindampfen Kristalle, deren Schmelzpunkt von 60° sich auch nach einer Destillation bei 0,3 mm und 185 bis 190° Badtemperatur nicht änderte.

2,695 mg Einwaage gaben 8,250 mg CO_2, 3,432 mg H_2O.
Gefunden: C 83,49%, H 14,25%.

Das Ganze (0,2 g) wurde mit 5 ccm Essigsäureanhydrid 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt: dabei blieb ein Großteil als Öl ungelöst und

erstarrte beim Abkühlen zu Kristallen; diese wurden filtriert und zur Entfernung von eingeschlossenem Essigsäureanhydrid mehrmals unter Wasser umgeschmolzen. Nach einer Destillation bei 0,2 mm und 190 bis 200° Badtemperatur war der Schmelzpunkt 61°.

2,636 mg Einwaage gaben 8,145 mg CO_2, 3,525 mg H_2O.
Gefunden: C 84,27%, H 14,95%.

Es wurde nochmals wie oben mit Essigsäureanhydrid behandelt, unter Wasser umgeschmolzen, destilliert und schließlich aus Petroläther lösung mit Aceton gefällt. Nach einer neuerlichen Destillation lag der Schmelzpunkt bei 61,5°.

3,286 mg Einwaage gaben 10,263 mg CO_2, 4,323 mg H_2O.
Gefunden: C 85,19%, H 14,72%.
Berechnet für $C_{27}H_{56}$: C 85,16%, H 14,84%. Mol.-Gew. 380,45.
Gefunden als Mittelwert von 6 Mol.-Gewichtsbestimmungen in Kampfer nach *Rast* 400,5.

Röntgenographische Untersuchung des Kohlenwasserstoffes.

Diese führten die Herren Dozent *O. Kratky* und *B. Schneidmesser* aus, wofür ihnen an dieser Stelle besonders gedankt sei. Nachstehend der Befund:

Die Substanz wurde auf Cellit aufgeschmolzen und eine Schwenkaufnahme um eine Achse in der Blättchenebene mit einem Schwenkbereich $\pm 10°$ gemacht. Beim Aufschmelzen stellt sich eine ausgezeichnete Netzebene parallel zur Oberfläche des Cellitplättchens. Dieser Netzebenenabstand d_1 ist von der Länge des Moleküls abhängig und nimmt, wie *A. Müller*[1] gezeigt hat, genau linear mit der Anzahl der Kohlenstoffatome zu.

Aus Pulveraufnahmen erhält man noch eine Reihe von Interferenzen, die sich auf Ebenen beziehen, die parallel zu den Blättchennormalen stehen. Die Abstände dieser Ebenen ändern sich bei den einzelnen Kohlenwasserstoffen nicht wesentlich, wohl aber sind sie für verschiedene Modifikationen der Paraffine charakteristisch.

Auswertung der Schwenkaufnahmen.

1. Kameraradius $r = 34{,}4$ mm CuK_α, $\lambda = 1{,}54$ Å.

D	ϑ	d_1
8,75 mm	3,64°	36,3 Å
11,70 „	4,87°	36,2 „
14,50 „	6,025°	36,7 „
17,60 „	7,31°	36,5 „

2. Aus einer Aufnahme, bei der der Mittelpunkt der Interferenzkreise nicht ersichtlich war, wohl aber die Differenz der Interferenzkreisradien, gingen folgende Werte für d_1 hervor:

[1] *A. Müller* und *W. B. Saville*, Journ. chem. Soc. London **127**, 599 (1925).

d_1 ang.	a_{14} ber.	a_{13} ber.	a_{24} ber.
36 Å	4,41	2,95	2,95
37 „	4,30	2,87	2,86

Gemessene a	daraus d_1
$a_{14} = 4{,}35$	36,10 Å
$a_{13} = 2{,}93$	36,50 „
$a_{24} = 2{,}95$	36,00 „

Aus den beiden Aufnahmen erhält man also für den großen Netzebenenabstand d_1 die Werte:

36,3, 36,2, 36,7, 36,5, 36,1, 36,5, 36,0,

das Mittel ist 36,4, der wahrscheinliche Wert 36,5.

Auswertung der Pulveraufnahme.

D	ϑ	d
21,2 mm	10,6°	$4{,}19 = d_2$
23,6 „	11,8°	$3{,}77 = d_3$
29,2 „	14,6°	$3{,}05 = d_4$
35,0 „	17,5°	$2{,}56 = d_5$
39,2 „	18,5°	$2{,}29 = d_6$

$r = 28{,}15$ mm, $\lambda = 1{,}54$ Å.

Müller und *Saville* haben in der oben angegebenen Arbeit eine Reihe von gesättigten Kohlenwasserstoffen untersucht, darunter auch $C_{27}H_{56}$. Sie finden für den großen Netzebenenabstand einen Wert von 37,1 Å. Die weiteren Netzebenenabstände sind:

$$d_2 = 4{,}17,\ d_3 = 3{,}77,\ d_4 = 3{,}01,\ d_5 = 2{,}51,\ d_6 = 2{,}25.$$

Die Werte des vorliegenden Paraffins sind innerhalb der Fehlergrenzen mit den von *Müller* und *Saville* für die erste Modifikation von $C_{27}H_{56}$ gefundenen Werten identisch. In der folgenden Tabelle sind beide Werte übersichtlich beschrieben.

Formel	d_1	d_2	d_3	d_4	d_5	d_6
$C_{27}H_{56}$	37,1	4,17	3,77	3,01	2,51	2,25
	36,5	4,19	3,77	3,05	2,56	2,29

Es geht also aus den Untersuchungen hervor, daß es sich sehr wahrscheinlich um den Kohlenwasserstoff $C_{27}H_{56}$ handelt. Es könnte noch $C_{26}H_{54}$ sein, keinesfalls aber ein höherer als C_{27}. Aus den kleinen Netzebenenabständen ersieht man auch, daß es sich um die erste Modifikation handelt. Die Abstände sind in sehr guter Übereinstimmung mit der Zelle, die von *Müller* für C_{29} und von *Hengstenberg* für C_{35} gefunden worden ist. Darnach erhalten die Netzebenenabstände folgende Indizes:

d_1 (002)	d_4 (210)
d_2 (110)	d_5 (020)
d_3 (200)	d_6 (120)

Zusammenfassung.

Der vorliegende Kohlenwasserstoff ist sehr wahrscheinlich $C_{27}H_{56}$, keinesfalls ein höherer.

Untersuchung der Fraktion B.

Beim langsamen Eindunsten der Alkohol-Äther-Mischung war eine weiße, fein kristallisierende Substanz zu erhalten, deren Schmelzpunkt nach zweimaligem Umlösen aus Alkohol-Äther bei 50° lag.

2,055 mg Einwaage I gaben 6,325 mg CO_2, 2,610 mg H_2O.
Gefunden: C 83,94%, H 14,21%.

Nach 6 Chromatogrammen aus Benzolpetrolätherlösung 1 : 10 an aktiviertem Aluminiumoxyd, bei denen, da keine Fluorescenz zu beobachten war, die Filtrate unbekümmert um Ausbeute gesammelt und auf Grund jeweils gleicher Schmelzpunkte vereinigt wurden, erhielt man I 0,1 g vom Fp. 52°, II 0,9 g vom Fp. 49,5° und III 0,1 g vom Fp. 60,5°. Die Schmelzpunkte änderten sich durch Destillationen nicht.

1,738 mg Einwaage I gaben 5,325 mg CO_2. 2,465 mg H_2O.
Gefunden: C 83,56%, H 15,88%.

2,375 mg Einwaage II gaben 7.325 mg CO_2, 3,170 mg H_2O.
Gefunden: C 84,12%, H 14,94%.

2,225 mg Einwaage III gaben 6,872 mg CO_2, 2,905 mg H_2O.
Gefunden: C 84,23%, H 14,61%.
Mol.-Gew. gefunden für I: 329,8, für II: 335, für III: 369 nach *Rast* in Kampfer.

Die Säuren nach der Verseifung.

Nach der Petrolätherextraktion der alkalischen Lösung nach der Verseifung wurde mit Salzsäure angesäuert und wieder mit Petroläther in einem Soxlethapparat behandelt: Ausbeute 5 g. Nach Abdestillieren des Petroläthers destillierte bei 0,3 mm zwischen 120 und 200° Badtemperatur ein teilweise zu Kristallen erstarrendes Öl „A": bei steigender Temperatur war Zersetzung zu beobachten, so daß die Destillation unterbrochen wurde. Es blieb ein Rückstand „B" (2 g), der in Äther aufgenommen und mit Diazomethan methyliert wurde; nach Abdampfen des Äthers destillierten bei 0,25 mm eine Fraktion I bei 140 bis 150° und eine Fraktion II bei 190 bis 200° Badtemperatur. Zur weiteren Reinigung destillierten wir Fraktion I bei 12 mm und 205°, II bei 0,25 mm und 195 bis 200°. Ausbeute an II: 0,09 g.

Fraktion I: 0,5782 g Einwaage gaben 0,4565 g AgJ.
Fraktion I: 0,7643 g Einwaage gaben 0,6075 g AgJ.
Fraktion II: 0,0921 g Einwaage gaben 0,0658 g AgJ.

Gefunden: Fraktion I: 10,43, 10,50% OCH_3.
Berechnet für $C_{19}H_{38}O_2$: 10,40% OCH_3.

Gefunden: Fraktion II: 9,44% OCH_3.
Berechnet für $C_{21}H_{42}O_2$: 9,50% OCH_3.

Da Fraktion I zufolge ihrer Methoxylwerte sowohl Stearin- wie auch ein Ölsäuremethylester oder ein Gemisch beider sein kann, wurde mit einer 2%igen Lösung von Brom in Eisessig titriert. 0,4928 g verbrauchten 2,35 ccm Bromlösung. Nach Entfernen des Eisessigs im Vakuum destillierte bei 0,3 mm und 140° Badtemperatur ein Öl, das etwa die Hälfte des zur Bromierung verwendeten Gemisches betrug, während der Rückstand nicht ohne Zersetzung destillierbar war.

Destillat: 5,264 mg Einwaage gaben 4,003 mg AgJ.
Gefunden: 10,05% OCH_3.
Berechnet für $C_{19}H_{38}O_2$: 10,40% OCH_3.

Das nicht destillierte Estergemisch zeigt die für Ölsäure charakteristische Rotviolettfärbung mit konzentrierter Schwefelsäure.[1]

Untersuchung von „A".

0,9216 g „A" verbrauchen 2,17 ccm einer 2%igen Brom-Eisessig-Lösung. Nach dem Vertreiben des Eisessigs im Vakuum destilliert bei 0,2 mm und 150 bis 160° Badtemperatur ein zu Kristallen erstarrendes Öl, während ein nicht destillierbarer Rückstand verbleibt: Fp. des Destillats 62,5°; der Schmelzpunkt blieb nach wiederholter Destillation unverändert; Mischprobe mit Palmitinsäure: 62,5°.

3,642 mg Einwaage gaben 10,032 mg CO_2, 4,107 mg H_2O.
Gefunden: C 75,12%, H 12,62%.
Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$: C 74,92%, H 12,59%.
Mol.-Gew. nach *Rast*: Gefunden: 256. Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$: 256,3.

0,3 g Säure wurden in der berechneten Menge NaOH gelöst, mit der äquivalenten Menge einer Lösung von p-Jod-ω-Bromacetophenon in Alkohol versetzt und $^1/_2$ Stunde unter Rückfluß gekocht. Aus der heiß filtrierten Lösung scheiden sich Kristalle vom Fp. 94° ab. Mischprobe mit dem p-Jod-phenacylester der Palmitinsäure: 94°.

Zusammenfassung.

Das Unverseifbare der Klatschmohnblüten ist ein Gemenge eines Paraffinalkohols $C_{26}N_{54}O$ mit einer Reihe von Paraffinkohlenwasserstoffen. Das Paraffin $C_{27}H_{56}$ wurde chromatographisch rein dargestellt

[1] *A. Manea*, Chem. Ztrbl. **1908 II**, 1702.

und röntgenanalytisch identifiziert. Sterine waren auch spurenweise nicht nachzuweisen. In dem verseifbaren Teil sind Palmitin-, Stearin- und Ölsäure nachweisbar: eine Säure $C_{20}H_{40}O_2$ ist wahrscheinlich enthalten.

Summary.

The unsaponifiable portion of the flower of the corn poppy consists of a mixture of an alcohol, $C_{26}H_{54}O$, with a series of paraffin hydrocarbons. The hydrocarbon $C_{27}H_{56}$ was prepared in a pure state by chromatographic methods and identified by means of X-ray examination. No trace of sterine could be detected. In the saponifiable portion, palmitic, stearic, and oleic acids were detected; an acid of the composition $C_{20}H_{40}O_2$ is probably also present.

Résumé.

L'insaponifiable des fleurs du coquelicot rouge est un mélange d'un alcool aliphatique $C_{26}H_{54}O$ avec quelques hydrocarbures de paraffine. La paraffine $C_{27}H_{56}$ était preparée à l'état de pureté par chromatographie et identifiée par rayons X. Pas même des traces de stérine étaient décelable. On pouvait déceler l'acide palmitique, l'acide stéarique et l'acide oleïque dans la part saponifiable; un acide $C_{20}H_{40}O_2$ est aussi contenu probablement.

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn.

Ein neuer mikrochemischer Bleinachweis.*

Von

C. Mahr.

(Eingelangt am 26. Juli 1938.)

Die Fällung des Bleis als schwerlösliches Blei-Thioharnstoff-Nitrat $2\,Pb(NO_3)_2 \cdot 11\,CS(NH_2)_2$ ist zur Abscheidung des Bleis von allen praktisch vorkommenden Metallen geeignet.[1] Die außerordentlich große Selektivität dieser Reaktion legte es nahe, dieses gut kristallisierende Salz auch zum mikrochemischen Bleinachweis zu verwenden. Die spezifische Feststellung kleinster Bleimengen ist zwar schon durch die Anwendung von Diphenylthiocarbazon[2] in cyankalischer, ammonsalz- und tartrathaltiger Lösung möglich, jedoch erfordert die große Empfindlichkeit dieses Nachweises ganz besondere Vorsicht in bezug auf die Reinheit des destillierten Wassers und der angewandten Reagenzien. Es ist daher nicht überflüssig, für den Nachweis etwas größerer Bleimengen noch eine andere spezifische Reaktion anzugeben, vor allem, wenn sie derartig sicher und einfach ausführbar ist wie die im folgenden beschriebene Methode: Versetzt man nämlich einen Tropfen einer kalten, 2 n-salpetersauren Bleisalzlösung mit etwas festem Thioharnstoff, so entstehen in dem Maße, wie die Flüssigkeit sich an Thioharnstoff sättigt, die sehr charakteristischen Stäbchen des Blei-Thioharnstoff-Nitrates. Dieser Nachweis gelingt auch in Gegenwart anderer Fremdmetalle, nur einige Platinmetalle und das Thallium stören, bzw. geben ähnliche Kristallisationen.[3] In bezug auf die Anwendbarkeit insbesondere neben anderen Schwermetallen der Schwefelwasserstoffgruppe ist die neue Reaktion vorteilhafter als der sonst übliche mikrochemische Bleinachweis als Bleichlorid, -jodid oder -sulfat bzw. als Kalium-Blei-Kupfer-Nitrit, wie

* Diese Arbeit wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

[1] *C. Mahr* und *Hertha Ohle*, Ztschr. anorgan. allg. Chem. **234**, 224 (1937).

[2] *H. Fischer*, Mikrochemie **8**, 319 (1930).

[3] Über die Anwendung dieser Reaktion zum Nachweis des Thalliums wird demnächst an anderer Stelle berichtet werden.

ein Vergleich der gefundenen Grenzverhältnisse mit den entsprechenden Zahlen zeigt, die in der Arbeit von *I. M. Korenman* und *Sch. Messonshnik*[1] veröffentlicht sind. Es läßt sich ohne weitere Trennungsoperation 1 Teil Blei neben 60 bis 70 Teilen Wismut, 75 Teilen Silber, mehr als 100 Teilen Kupfer, Cadmium, Arsen, Antimon, Zinn, Molybdän und auch neben großen Überschüssen an Gold und Platin nachweisen. Quecksilber ist, soweit es in mehr als 60fachem Überschuß vorhanden ist, durch Glühen leicht zu entfernen. Die Elemente der Schwefelammoniumgruppe, die Erdalkalien einschließlich Barium, die Alkalien und Ammonsalze stören auch bei mehr als 100fachem Überschuß nicht. Noch sehr viel größer wird das Grenzverhältnis, wenn man das Blei an einer kleinen Platinanode elektrolytisch als Superoxyd niederschlägt und mit der so erhaltenen Abscheidung die Reaktion anstellt. Hierbei ist die große Spezifität wieder vorteilhaft, da gleichzeitig abgeschiedene höhere Oxyde anderer Metalle (Wismut, Mangan u. a.) den eindeutigen Bleinachweis nicht stören. Es gelingt sehr leicht, innerhalb 5 Minuten auf diese Weise 1 Teil Blei neben mehr als der 1000fachen Menge von Silber, Quecksilber, Wismut, Kupfer und Cadmium festzustellen. Beispiele der Anwendung des beschriebenen neuen Nachweises auf Lösungsgemische und Legierungen werden weiter unten (S. 70 u. 71) im Anschluß an die Arbeitsvorschrift gegeben. Es darf vielleicht noch darauf hingewiesen werden, daß die Benutzung eines einzigen, festen und beliebig haltbaren Reagens sehr bequem ist.

Ausführung des Bleinachweises.

Enthält die auf Blei zu prüfende Lösung außer Salpetersäure noch andere Säuren oder ist ihre Säurekonzentration unbekannt, so verdampft man einen Tropfen auf einem Objektträger vollkommen zur Trockne und erhitzt soweit, daß alle freien Säuren einschließlich Schwefelsäure vertrieben werden und etwa vorhandene größere Quecksilbermengen sich verflüchtigen. Den erkalteten Rückstand nimmt man mit 1 Tropfen 2 n-Salpetersäure auf und stäubt eine größere Anzahl Körnchen von zerriebenem Thioharnstoff in die Flüssigkeit, so daß etwa 10% oder mehr des Flüssigkeitsvolumens an Thioharnstoff vorhanden sind. Bei etwa 100facher Vergrößerung sieht man dann unter dem Mikroskop die Bildung der doppelbrechenden, etwa 20 bis 50 μ langen und stets sehr dünnen, stäbchenförmigen Prismen des Blei-Thioharnstoff-Nitrates, die oft gekreuzt und manchmal zu Sternchen vereinigt sind (Abb. 1 und 2). Meist bilden sich die Kristalle in den Kanälen zwischen den zugesetzten Thioharnstoffkörnern; das in Abb. 3 wiedergegebene Reaktionsbild ist sehr charakteristisch. Die großen, regelmäßigen, sechsseitigen Prismen des Thioharnstoffes selbst, die sich nach längerer Zeit aus der gesättigten Lösung aus-

[1] *I. M. Korenman* und *Sch. Messonshnik*, Mikrochemie **20**, 189 (1936).

scheiden und rasch anwachsen, können unter keinen Umständen mit dem Bleisalz verwechselt werden. Bei Gegenwart von sehr viel Silber entstehen sehr lange, fächer- oder federförmig angeordnete Nadeln eines

Abb. 1. Vergr. 100fach.

Abb. 2. Vergr. 100fach.

Silber-Thioharnstoff-Salzes, neben denen aber meist auch noch die kurzen, stäbchenförmigen Bleinadeln zu erkennen sind. Notfalls kann das Silber durch ein kurzes Stück Kupfer- oder Nickeldraht metallisch abgeschieden werden. Ähnlich können auch bei großem Überschuß von Kupfer Fremdkristallisationen auftreten. Bei Anwesenheit von viel

Abb. 3. Vergr. 50fach.

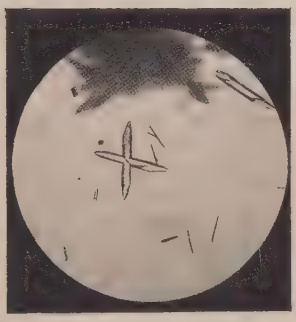


Abb. 4. Vergr. 100fach.

Kupfer gibt man überhaupt am besten zuerst etwas gesättigte Thioharnstofflösung auf den Abdampfrückstand und dann erst einen größeren Tropfen der 2 n-Salpetersäure. Sollten sich dann trotzdem noch prismatische Kristalle einer Kupfer-Thioharnstoffverbindung abscheiden, so sind diese an den abgeschrägten Endflächen, an der derberen Ausbildung und an ihrem raschen Anwachsen gut von den unverwachsen daneben befindlichen Bleistäbchen zu unterscheiden (Abb. 4).

Beim Vorliegen großer Fremdmetallmengen, insbesondere von viel Silber, Wismut und Kupfer, elektrolysiert man bei 3,2 Volt und etwa 0,2 Amp. etwa 0,5 bis 1 ccm der heißen, ungefähr 5 bis 10%ig salpetersauren und mit etwas Ammonnitrat versetzten Lösung in einem kleinen Platinlöffel unter Anwendung eines hakenförmig gebogenen, 1 mm starken Platindrahtes als Anode. Nach rund 5 Minuten Dauer verdrängt man den Elektrolyt durch destilliertes Wasser, hebt die Anode heraus, spült nochmals kurz ab und führt das als Anode gebrauchte Drahtende in einen Tropfen von 2 n-Salpetersäure ein, der mit einem Körnchen Thioharnstoff (als Reduktionsmittel) versetzt ist und sich auf einem Objektträger befindet. Darnach versetzt man den Tropfen mit weiteren Mengen festen Thioharnstoffes und kann dann die Bildung der Bleistäbchen beobachten. Das Ergebnis der Prüfung des beschriebenen Bleinachweises mit oder ohne elektrolytische Fällung ist schon oben mitgeteilt worden, soweit es sich auf die gleichzeitige Anwesenheit eines anderen Metalles in großem Überschuß bezog. In den folgenden Lösungsgemischen bzw. Legierungen gelang der direkte Bleinachweis ohne vorhergehende elektrolytische Abscheidung bei jeder Prüfung stets eindeutig. Von den Lösungen wurden ein, bei kleinen Bleimengen zwei bis drei Tropfen auf dem Objektträger eingedampft, von den Legierungen wurden 3 bis 10 mg in Säure gelöst, zur Trockne gebracht, mit 0,5 ccm 2 n-Salpetersäure aufgenommen und in 1 bis 2 Tropfen dieser Lösung auf Blei geprüft. Alle Lösungen enthielten die Metalle als Nitrate, Zinn (IV) und Antimon als Chloride, Arsen als Arseniat. Zu jeder Lösung wurden 2 bis 3 Tropfen konz. Schwefelsäure zugesetzt, um die Verhältnisse in einer systematischen Analyse wiederzugeben, bei der sich ja stets durch die oxydierende Auflösung der Sulfide etwas Sulfat bilden wird.

Tabelle.

Menge der Lösung in ccm	Fremdmetalle in mg	Blei	
		mg	%
5	70 Cu, 70 Cd	0,5	**0,36**
6	120 Cu, 30 Cd	0,5	**0,33**
5	60 Cu, 60 Bi	0,75	**0,63**
5	30 Hg, 30 Cu, 30 Cd, 30 Bi	0,5	**0,42**
5	120 Hg, 30 Cd	0,5	**0,33**
5	90 As, 15 Cd, 15 Cu, 15 Hg	0,5	**0,37**
5	100 Sb, 30 Sn, 15 Cu	0,5	**0,35**
5	100 Sn, 15 Bi, 15 Cd	0,5	**0,39**
5	0,7 Au, 0,7 Pt, 10 Mo, 30 Ag, 30 Cu	0,5	**0,70**
4	je 10 Ag, Hg, Bi, Cu, Mo, As, Sb, Sn	0,3	**0,37**

Legierung 1 enthält: 0,58% Lösungsrückstand.
50,5 % Cu, 48,5% Zn
0,35% Pb Bleireaktion stark positiv.

Legierung 2 enthält:	58,3% Cu, 12,5% Ni, 27,6% Zn, 0,38% Fe, 0,2% Mn, **1,2% Pb**	Bleireaktion stark positiv.
Legierung 3 enthält:	59,1 % Cu, 22,25% Ni, 18,45% Zn, 0,2% Fe, **0,0 % Pb**	Bleireaktion negativ.
Legierung 4 enthält:	63,5% Cu, 36,2% Zn, 0,08% Fe, **0,19% Pb**	Bleireaktion noch positiv.
Fahlerz enthält:	26,4% Gangart, 17,9% S, 12,7% Cu, 14,3% Fe, 8,6% Sb, 3,6% As, 0,8% Zn, 0,1% Hg, 0,2% Bi, **3,5% Pb**	Bleireaktion stark positiv.

In einer reinen Bleinitratlösung gilt als Erfassungsgrenze: 0,02 γ Pb, als Grenzkonzentration 1 : 40000. Nicht nachweisbar war im allgemeinen das Blei nach der direkten Methode, wenn davon in einer Legierung weniger als etwa 0,2% vorhanden war. Wie erwähnt, sind aber wesentlich geringere Bleigehalte einwandfrei feststellbar, wenn man das Blei elektrolytisch als Superoxyd abscheidet und es dann als Thioharnstoffnitrat nachweist. Der Nachweis gelang z. B. in Lösung A, enthaltend je 150 mg Hg, Ag, Cu, Cd und Bi sowie 0,60 mg Pb = **0,08% Blei,** Legierung B, enthaltend 64,12% Cu, 35,8% Zn und **0,05% Pb**.

Die äußerste Grenze des Bleinachweises in Messing und anderen Legierungen soll in einer gesonderten Untersuchung ermittelt werden, wenn eine größere Anzahl spektralanalytisch geprüfter Legierungen zur Verfügung steht.

Aus dem Analytischen und Pharmazeutisch-chemischen Institut der kgl. ung. *Pázmány-Péter*-Universität, Budapest. Vorstand: Prof. Dr. *T. Széki*.

Die Aktivierung der katalytischen Reaktion des Vanadins mit Brenzcatechin.

Von

L. Szebellédy und **M. Ajtai.**

(Eingelangt am 27. Juli 1938.)

Das Vanadin katalysiert die zwischen Paraphenetidin und Kaliumbromat verlaufende Reaktion. Auf Grund dieser Wirkung kann 1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Brenzcatechin wirkt aktivierend auf diese Reaktion, und zwar am stärksten, wenn sie auf folgende Art ausgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 1 ccm Brenzcatechinlösung, 1 ccm salzzaurer Paraphenetidinlösung und 1 ccm Kaliumbromatlösung versetzt und zu 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Reagenzienmengen. Die vanadinhaltige Probe färbt sich nach wenigen Minuten violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Reagenzien: 1. 0,1%ige salzsaure Paraphenetidinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumbromatlösung.
3. 1%ige Brenzcatechinlösung.

Wir bestimmten nun die kleinste Vanadinmenge, welche mit Hilfe dieser Reaktion nachweisbar ist.

Die 0,001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach 5 Minuten violett, während die Vergleichsprobe rosa getönt erscheint.

Die 0,0005 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach 8 Minuten violett, die Vergleichsprobe erscheint in gut beobachtbarer Weise blasser violett.

Zwischen der Farbe der 0,0001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe war kein Unterschied bemerkbar, selbst nach längerem Stehen.

Die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises nach der beschriebenen Methode ist also folgende: Die Erfassungsgrenze beträgt 0,0005 γ,

die Grenzkonzentration 1 : 10000000000. Es wurde demnach festgestellt, daß in Gegenwart von Brenzcatechin die zweitausendfach geringere Menge Vanadin nachweisbar ist als ohne Brenzcatechin.

In Tabelle I sind die Ergebnisse von Versuchen zusammengefaßt, welche die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der häufigsten Kationen und Anionen zum Gegenstand hatten.

Tabelle I.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 0,01 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:1000000	1 $AgNO_3$ [1]	2	violett	violett
1:1000000	1 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$ [1]	5	farblos	farblos
1:100000	0,1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$	3	tief violett	schwach rosa
1:1000000	1 $Hg(NO_3)_2$	2	violett	rosa
1:1000000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	1/2	tiefviolett	farblos
1:10000000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	3	„	„
1:10000000	10 KH_2AsO_4	3	violett	rosa
1:10000000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$	3	tiefviolett	farblos
1:1000000	1 $(NH_4)_2SnCl_6$	5	violett	„
1:100000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	3	tiefviolett	rosa
1:10000000	10 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2	violett	farblos
1:1000000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$ [1]	5	grünviolett	grünviolett
1:10000000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	2	violett	rosa
1:1000000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	2	„	„
1:10000000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2	tiefviolett	farblos
1:10000000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	3	„	„
1:10000000	10 $Ca(NO_3)_2$	2	„	„
1:10000000	10 $Sr(NO_3)_2$	2	„	„
1:10000000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	3	„	„
1:10000000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2	„	„
1:10000000	10 NaCl	2	„	„
1:10000000	10 KNO_3	2	„	„
1:10000000	10 NH_4NO_3	2	violett	„
1:1000000	1 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ [2]	3	„	„
1:1000000	1 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$ [2]	3	„	„
1:1000000	1 KBr	2	tiefviolett	„
1:1000000	1 KJ	2	„	„

Silberionen stören den Vanadinnachweis, können aber mit 10 cg Natriumchlorid unschädlich gemacht werden.

Bleiionen stören den Nachweis, ihr Einfluß kann jedoch mit 10 cg Natriumsulfat unwirksam gemacht werden.

Ferriionen stören den Nachweis, doch kann diese störende Wirkung durch Zusatz von 5 cg Natriumbifluorid beseitigt werden.

[1] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.

[2] Neutralisiert.

Zusammenfassung.

Verfasser haben eine Reaktion des Vanadins gefunden, bei der das Vanadin durch seine katalytische Wirkung kenntlich gemacht wird. Es wurde festgestellt, daß Brenzcatechin die katalytische Wirkung des Vanadins stark aktiviert, wodurch die Empfindlichkeit der Reaktion gesteigert werden kann. Empfindlichkeit und Grenzverhältnisse dieser aktivierten Reaktion wurden ermittelt.

Summary.

The authors have found a reaction of vanadium which enables this element to be identified by means of its catalytic action. It is shown that pyrocatechol strongly activates this catalytic action, and increases the sensitivity of the reaction. The sensitivity and limit of this activated colour reaction has been ascertained.

Résumé.

Les auteurs ont trouvé une réaction du vanadium, où le vanadium est caractérisé par son action catalytique. On a constaté, que le pyrocatéchine peut activer fortement la réaction catalytique, par laquelle la sensibilité est augmentée. On a déterminé la sensibilité et les limites de cette réaction activée.

Aus dem Analytischen und Pharmazeutisch-chemischen Institut der kgl. ung. *Pázmány-Péter*-Universität, Budapest. Vorstand: Prof. Dr. *T. Széki.*

Die Aktivierung der katalytischen Reaktionen des Vanadins mit o-Oxychinolin.

Von

L. Szebellédy und **M. Ajtai.**

(Eingelangt am 27. Juli 1938.)

Das Vanadin katalysiert die zwischen schwefelsaurem Anilin und Kaliumchlorat verlaufende Reaktion; mit Hilfe dieser Reaktion kann 0,001 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das o-Oxychinolin oder kurz „Oxin" übt auf diese Reaktion eine aktivierende Wirkung aus, die am größten ist, wenn die Reaktion auf folgende Art durchgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 2 ccm schwefelsaurer Anilinlösung, 1 ccm Kaliumchloratlösung und 0,1 ccm Oxinlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen dieser Reagenzien. Die beiden Proben erwärmt man 5 Minuten lang auf einem Wasserbad, damit der Oxinkomplex sich völlig ausbildet, hierauf werden die Reagensgläser in ein Gestell gebracht und nach 20 bis 24 Stunden beobachtet. In Gegenwart von Vanadin färbt sich die Probe gelbbraun, während die Vergleichsprobe nur schwach gelblich getönt erscheint.

Reagenzien: 1. 5%ige schwefelsaure Anilinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumchloratlösung.
3. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Wir stellten nun die kleinste Vanadinmenge fest, welche mit Hilfe dieser Reaktion nachweisbar ist.

In Gegenwart von 0,001 γ Vanadin färbt sich die Probe bräunlichgelb, während die Vergleichsprobe nur schwach gelblich gefärbt erscheint.

Eine 0,0001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich intensiver gelb als die Vergleichsprobe.

Zwischen der Farbe der 0,00001 γ Vanadin enthaltenden Probe und

der der Vergleichsprobe war selbst nach 50stündigem Stehen kein Unterschied bemerkbar.

Was also die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises mit der beschriebenen Methode anbelangt, ist die *Erfassungsgrenze* 0,0001 γ, die *Grenzkonzentration* 1:50000000000. Somit wurde festgestellt, daß in Gegenwart von Oxin die zehnfach geringere Menge Vanadin nachgewiesen werden kann als bei Abwesenheit des Oxins.

Tabelle I enthält die Ergebnisse von Versuchen, welche die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen zum Gegenstand hatten.

Tabelle I.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Stunden	Färbung der 0,01 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:10000000	10 $AgNO_3$	21	gelb	blaßgelb
1:10000000	10 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$.	21	gelbbraun	gelb
1:1000000	1 $Hg(NO_3)_2$	21	braun	farblos
1:1000000	1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$[1]	21	violettbraun	violettbraun
1:1000000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$[1]	21	braun	braun
1:10000000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	21	„	gelbbraun
1:10000000	10 KH_2AsO_4	21	„	gelb
1:10000000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$.	21	„	farblos
1:100000	0,1 $(NH_4)_2SnCl_6$	21	„	bräunlichgelb
1:100000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	21	„	rosa
1:1000000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	21	„	grüngelb
1:1000000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$[2]	21	dunkelbraun	dunkelbraun
1:10000000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	21	braun	gelb
1:1000000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	21	bräunlichgrün	gelblichgrün
1:10000000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	21	braun	gelb
1:10000000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	21	stark grüngelb	schwach violettbraun
1:10000000	10 $Ca(NO_3)_2$	21	braun	bräunlichgelb
1:10000000	10 $Sr(NO_3)_2$	21	„	gelb
1:10000000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	21	„	farblos
1:10000000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	21	„	bräunlichgelb
1:10000000	10 $NaCl$	21	„	„
1:10000000	10 KNO_3	21	„	„
1:10000000	10 NH_4NO_3	21	„	farblos
1:10000000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$	21	„	gelb
1:10000000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$	21	„	„
1:1000000	1 KBr	21	„	„
1:1000000	1 KJ	21	gelb	schwach gelblich

[1] Fremdsalz stört.

[2] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.

Ferriion stört den Vanadinnachweis, kann jedoch mit 5 cg Natriumbifluorid unschädlich gemacht werden.

Wismut und Kupfer stören den Vanadinnachweis.

Das Vanadin katalysiert die zwischen Paraamidophenol und Kaliumchlorat verlaufende Reaktion; auf Grund dieser Wirkung kann 0,01 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin übt auch bei dieser Reaktion eine aktivierende Wirkung aus, welche am stärksten ist, wenn die Reaktion auf folgende Art ausgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 1 ccm Paraamidophenollösung, 1 ccm Kaliumchloratlösung und 0,1 ccm Oxinlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen dieser Reagenzien. Auf dem Wasserbad färbt sich die vanadinhaltige Probe violett, während die Vergleichsprobe unverändert bleibt.

Reagenzien: 1. 0,1%ige Paraamidophenollösung. Je 100 ccm der Lösung enthalten 0,1 ccm konz. Salzsäure („pro analysi").
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumchloratlösung.
3. 0,01%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Wir bestimmten nun die kleinste Vanadinmenge, die mit Hilfe dieser Reaktion noch erfaßbar ist.

Die 0,001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 5 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt unverändert.

Die 0,0005 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 10 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt unverändert.

Zwischen der Farbe der 0,0001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe war selbst nach längerem Stehen auf dem Wasserbade keinerlei Unterschied wahrnehmbar.

Die Versuche ergaben also für die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises mit Hilfe der beschriebenen Methode: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,0005 γ, die *Grenzkonzentration* 1:10000000000. Es wurde festgestellt, daß bei Gegenwart von Oxin die zwanzigfach geringere Menge Vanadin erfaßbar ist als ohne Oxin.

Tabelle II faßt die Ergebnisse von Versuchen zusammen, welche die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen prüften.

Blei stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Natriumsulfat unschädlich gemacht werden.

Kupfer und Cadmium stören den Vanadinnachweis.

Ammoniumstannichlorid stört den Vanadinnachweis.

Tabelle II.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 0,1 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:100000	1 $AgNO_3$	3	violett	rosa
1:1000000	10 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$[1]	5	gelb	gelb
1:100000	1 $Hg(NO_3)_2$	5	violett	farblos
1:100000	1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$	3	gelb	„
1:100000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$[2]	3	violett	violett
1:1000000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$[2]	2	bräunlichgelb	bräunlichgelb
1:1000000	10 KH_2AsO_4	1	violett getönt	farblos
1:1000000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$	3	violett	rosa
1:100000	1 $(NH_4)_2SnCl_6$[2]	3	gelb	gelb
1:10000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	violett	violett getönt
1:100000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	„	bräunlichgelb
1:10000	0,1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$	5	braun	gelb
1:1000000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	3	violett	schwach violett
1:100000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	5	violettblau	violett
1:1000000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	violett	farblos
1:1000000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	5	„	schwach violett
1:1000000	10 $Ca(NO_3)_2$	2	„	farblos
1:1000000	10 $Sr(NO_3)_2$	3	„	„
1:1000000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	2	„	schwach violett
1:1000000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	bräunlichgelb	gelb
1:1000000	10 NaCl	5	violett	schwach violett
1:1000000	10 KNO_3	3	„	farblos
1:1000000	10 NH_4NO_3	5	„	„
1:1000000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$[3]	3	bräunlichgelb	gelb
1:1000000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$[3]	3	„	„
1:100000	1 KBr	5	violett	violett getönt
1:100000	1 KJ	5	schwach violett	farblos

Das Vanadin katalysiert die zwischen Di-o-Anisidin und Kaliumperjodat verlaufende Reaktion; durch diese Wirkung kann 0,1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin übt auch auf diese Reaktion eine aktivierende Wirkung aus, die am größten ist, wenn die Reaktion auf folgende Art durchgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 0,2 ccm Di-o-Anisidinlösung, 0,3 ccm Oxinlösung und 0,1 ccm Kaliumperjodatlösung versetzt und

[1] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.
[2] Fremdsalz stört.
[3] Neutralisiert.

auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält gleichfalls in 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen der genannten Reagenzien. Man beobachtet nun, daß nach einiger Zeit allmählich eine rote Färbung auftritt, plötzlich wird dann der rote Farbstoff ausgeschieden und die Probe trübt sich. Die Farbe der vanadinhaltigen Probe ist während des ganzen Reaktionsverlaufes intensiver als die der Vergleichsprobe und der rote Farbstoff wird auch früher als in dieser abgeschieden.

Reagenzien: 1. 0,05%ige salzsaure Di-o-Anisidinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumperjodatlösung.
3. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Wir bestimmten nun die kleinste Vanadinmenge, die mit Hilfe dieser Reaktion noch erfaßt werden kann.

Die 0,001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach einigen Minuten lebhafter rot als die Vergleichsprobe und der rote Farbstoff wird früher als in dieser abgeschieden.

Die 0,0001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach einigen Minuten lebhafter rot als die Vergleichsprobe. Der rote Farbstoff wird in beiden Proben zugleich abgeschieden.

In bezug auf die Farbe und den Zeitpunkt der Trübung war bei der 0,00001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der Vergleichsprobe kein Unterschied wahrnehmbar.

Es ergibt sich also die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises wie folgt: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,0001 γ, die *Grenzkonzentration* 1:50000000000.

Wir führten Versuche aus, um die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart von fremden Kationen und Anionen zu prüfen. Diese führten zu dem Ergebnis, daß fast ausnahmslos alle häufigeren Kationen und Anionen den Reaktionsverlauf stören; die Reaktion besitzt also keine praktische Bedeutung. Sie dient nur als Beispiel, daß ein komplexbildender Stoff geeignet ist, die Empfindlichkeit eines katalytischen Nachweises bedeutend zu steigern. In diesem Falle konnte in Gegenwart von Oxin die tausendfach geringere Menge Vanadin erfaßt werden als ohne Oxin.

Das Vanadin katalysiert die zwischen Paraphenetidin und Kaliumchlorat verlaufende Reaktion; es kann dadurch 1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin aktiviert diese Reaktion in hohem Maße, und zwar am stärksten, wenn die Reaktion auf folgende Art ausgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 1 ccm salzsaurer Paraphenetidinlösung, 1 ccm Kaliumchloratlösung und 0,1 ccm Oxinlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen der genannten Reagenzien. Auf

dem Wasserbade färbt sich die vanadinhaltige Probe nach einigen Minuten violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Reagenzien: 1. 0,1%ige salzsaure Paraphenetidinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumchloratlösung.
3. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Wir bestimmten nun die kleinste Vanadinmenge, welche mit Hilfe dieser Reaktion noch erfaßbar ist.

In Anwesenheit von 0,01 γ Vanadin färbt sich die Probe bei Wasserbadtemperatur nach 1 Minute violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Tabelle III.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 0,1 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:100000	1 $AgNO_3$[1]	2	blau	grauviolett
1:1000000	10 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$[1]	10	farblos	farblos
1:100000	1 $Hg(NO_3)_2$[2]	5	gelb	gelb
1:100000	1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$	1	schwach violett	rosa
1:100000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	2	violettbraun	gelblich
1:1000000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	2	grauviolett	farblos
1:1000000	10 KH_2AsO_4	2	violett	rosa
1:1000000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$.	2	„	farblos
1:100000	1 $(NH_4)_2SnCl_6$[1]	10	farblos	„
1:10000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2	violett	„
1:100000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	schmutzigviolett	„
1:100000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$[1]	—	blau	blau
1:1000000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	2	violett	rosa
1:100000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	2	schmutzigviolett	blaß schmutzigviolett
1:1000000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	3	violett	farblos
1:1000000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	2	schwach violett	„
1:1000000	10 $Ca(NO_3)_2$	1	violett	„
1:1000000	10 $Sr(NO_3)_2$	1	schwach violett	„
1:1000000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	2	violett	„
1:1000000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	2	„	„
1:1000000	10 NaCl	1	„	„
1:1000000	10 KNO_3	1	„	„
1:1000000	10 NH_4NO_3	1	„	„
1:1000000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$[3]	1	schwach violett	„
1:1000000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$[3]	1	„ „	„
1:100000	1 KBr	2	violett	„
1:100000	1 KJ	2	„	„

[1] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.
[2] Fremdsalz stört.
[3] Mit Essigsäure neutralisiert.

Die 0,001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 5 Minuten violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Zwischen der Farbe der 0,0001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe war selbst nach längerem Stehen auf dem Wasserbade kein Unterschied wahrnehmbar.

Die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises ist daher folgende: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,001 γ, die *Grenzkonzentration* 1:5000000000. Es wurde also festgestellt, daß in Gegenwart von Oxin die tausendfach geringere Menge Vanadin erfaßt werden kann als bei Abwesenheit von Oxin.

Tabelle III enthält die Ergebnisse von Versuchen, die die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen prüften.

Silber stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Natriumjodid unschädlich gemacht werden.

Blei stört den Vanadinnachweis, kann jedoch mit 10 cg Natriumsulfat unschädlich gemacht werden.

Ammoniumstannichlorid stört den Vanadinnachweis, sein Einfluß kann aber mit 10 cg Kaliumoxalat ausgeschaltet werden.

Ferriionen stören den Vanadinnachweis, können aber mit 5 cg Natriumbifluorid unwirksam gemacht werden.

Mercuriionen stören den Vanadinnachweis.

Das Vanadin katalysiert die Reaktion zwischen Paraphenetidin und Kaliumbromat; auf Grund dieser Wirkung kann 1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin übt auch auf diese Reaktion eine aktivierende Wirkung aus, die am stärksten ist, wenn die Reaktion auf folgende Art ausgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 0,1 ccm Oxinlösung, 0,1 ccm salzsaurer Paraphenetidinlösung und 0,5 ccm Kaliumbromatlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen dieser Reagenzien. Auf dem Wasserbade färbt sich die vanadinhaltige Probe nach einigen Minuten violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Reagenzien: 1. 0,1%ige salzsaure Paraphenetidinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumbromatlösung.
3. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Wir bestimmten nun die kleinste Vanadinmenge, welche mit Hilfe der beschriebenen Methode erfaßbar ist.

Die 0,1 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 3 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt farblos.

Die 0,01 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 5 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt farblos.

Zwischen der Farbe der 0,001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe war auch nach längerer Zeit kein Unterschied wahrnehmbar.

Die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises ist also folgende: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,01 γ, die *Grenzkonzentration* 1:500000000. Es wurde also festgestellt, daß in Gegenwart von Oxin die hundertfach geringere Menge Vanadin erfaßbar ist als ohne Oxin.

In Tabelle IV sind Versuche zusammengefaßt, welche die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen zum Gegenstande hatten.

Tabelle IV.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 1 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:10000	1 $AgNO_3$	1	violettbraun	farblos
1:10000	1 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$	1	schwach violett	„
1:10000	1 $Hg(NO_3)_2$[1]	5	gelber Niederschlag	gelber Niederschlag
1:10000	1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$	1	violett	farblos
1:10000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	1	„	„
1:100000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	1	„	„
1:100000	10 KH_2AsO_4	1	„	„
1:100000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$	1	„	„
1:10000	1 $(NH_4)_2SnCl_6$	1	schwach violett	„
1:1000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$^1/_2$	schmutzig-braunviolett	rosa
1:10000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$^1/_2$	violett	grünlich
1:10000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$	1	schwach violett	farblos
1:100000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	1	violett	„
1:10000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	1	„	„
1:100000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $Ca(NO_3)_2$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $Sr(NO_3)_2$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 NaCl	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 KNO_3	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 NH_4NO_3	$^1/_2$	„	„
1:100000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$[2]	1	schwach violett	„
1:100000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$[2]	1	„ „	„
1:10000	1 KBr	1	violett	„
1:10000	1 KJ	1	„	„

Mercuriionen stören den Vanadinnachweis.

[1] Fremdsalz stört.
[2] Neutralisiert.

Das Vanadin katalysiert die zwischen Paraphenetidin und Kaliumperjodat verlaufende Reaktion; durch diese Wirkung kann 1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin kann auch bei dieser Reaktion als Aktivator wirken, am stärksten dann, wenn die Reaktion folgendermaßen durchgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 0,1 ccm Oxinlösung, 0,1 ccm salzsaurer Paraphenetidinlösung und 0,5 ccm Kaliumperjodatlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Die Vergleichsprobe enthält in ebenfalls

Tabelle V.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 1 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:10000	1 $AgNO_3$[1]	1	braun	braun
1:10000	1 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$[1]	5	farblos	farblos
1:10000	1 $Hg(NO_3)_2$	1	grasgrün	gelblich
1:1000	0,1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$ ..	1	schwach violett	farblos
1:10000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	1	gelbgrüner Niederschlag, darüber befindliche Lösung violett	gelbgrüner Niederschlag, darüber befindliche Lösung farblos
1:100000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	1	violett	farblos
1:100000	10 KH_2AsO_4	1	„	„
1:100000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$	1	schwach violett	„
1:10000	1 $(NH_4)_2SnCl_6$[2].....	10	farblos	„
1:1000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$.....	1	violett	rosa
1:10000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$	1	„	farblos
1:10000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$[1]	1	„	violett
1:100000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$ ..	1	violett getönt	farblos
1:10000	1 $Cr_2(SO_4)_3$	1	violett	schwach violett
1:100000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	1	„	farblos
1:1000	0,1 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$[2] ...	1	„	violett
1:100000	10 $Ca(NO_3)_2$	1	„	farblos
1:100000	10 $Sr(NO_3)_2$	1	„	„
1:100000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$.....	1	schwach violett	„
1:100000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	1	violett	„
1:100000	10 NaCl	1	„	„
1:100000	10 KNO_3	1	„	„
1:100000	10 NH_4NO_3	1	„	„
1:100000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$[3]..	1	„	„
1:100000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$[3] ..	1	„	„
1:10000	1 KBr	1	„	„
1:10000	1 KJ[2]	1	gelb	gelb

[1] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.
[2] Fremdsalz stört.
[3] Neutralisiert.

5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen der genannten Reagenzien. In Gegenwart von Vanadin färbt sich die Probe nach wenigen Minuten violett, während die Vergleichsprobe farblos bleibt.

Reagenzien: 1. 0,1%ige salzsaure Paraphenetidinlösung.
2. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumperjodatlösung.
3. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Sodann bestimmten wir die kleinste Vanadinmenge, welche mit Hilfe dieser Reaktion erfaßbar ist.

Die 0,1 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach 3 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt farblos.

Die 0,01 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich nach 5 Minuten violett, die Vergleichsprobe bleibt farblos.

Zwischen der Farbe der 0,001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe war auch nach längerem Stehen kein Unterschied wahrnehmbar.

Die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises ist also folgende: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,01 γ, die *Grenzkonzentration* 1:500000000. Es wurde also festgestellt, daß in Gegenwart von Oxin die hundertfach geringere Menge Vanadin erfaßbar ist als ohne Oxin.

Tabelle V enthält Versuche, welche die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen prüften.

Silber stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Natriumchlorid unschädlich gemacht werden.

Blei stört den Vanadinnachweis, sein Einfluß kann aber mit 10 cg Natriumsulfat ausgeschaltet werden.

Ferriionen stören den Vanadinnachweis, können aber mit 5 cg Natriumbifluorid unwirksam gemacht werden.

Ammoniumstannichlorid, Mangano- und Jodidionen stören den Vanadinnachweis.

Unter der oxydativen Einwirkung von Kaliumchlorat entsteht aus α-Naphthol und Paraphenylendiamin ein braunroter Farbstoff. Dieser Vorgang wird durch Vanadin katalysiert; es kann durch diese Wirkung 0,1 γ Vanadin nachgewiesen werden. Das Oxin aktiviert diese Reaktion, am stärksten dann, wenn sie auf folgende Art ausgeführt wird:

Die vanadinhaltige Probe wird mit 0,1 ccm Oxinlösung, 1 ccm Paraphenylendiaminlösung, 1 ccm α-Naphthollösung und 1 ccm Kaliumchloratlösung versetzt und auf 5 ccm aufgefüllt. Eine Vergleichsprobe enthält in gleichfalls 5 ccm Gesamtvolumen die gleichen Mengen der genannten Reagenzien. Die Proben werden auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sich die vanadinhaltige Probe nach einigen Minuten braunrot färbt, während die Vergleichsprobe farblos bleibt oder höchstens schwach orange getönt erscheint.

Reagenzien: 1. 0,1%ige α-Naphthollösung.
2. 0,1%ige Paraphenylendiaminlösung. Je 100 ccm der Lösung enthalten 0,1 ccm konz. Salzsäure („pro analysi").
3. Bei Zimmertemperatur (20°) gesättigte Kaliumchloratlösung.
4. 1%ige Lösung von Oxin in 1 n-Essigsäure.

Sodann bestimmten wir die kleinste Vanadinmenge, welche mit Hilfe der beschriebenen Methode nachweisbar ist.

Tabelle VI.

Verhältnis von Vanadin zu Fremdsalz	Fremdsalz in cg	Reaktionszeit in Min.	Färbung der 0,1 γ V enthaltenden Probe	Färbung der Vergleichsprobe
1:100000	1 $AgNO_3$[1]	1	grau	grau
1:100000	1 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$[1]	10	rotbraun	rotbraun
1:100000	1 $Hg(NO_3)_2$	5	„	rosa
1:100000	1 $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\,H_2O$.....	5	„	schwach rotbraun
1:100000	1 $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$[2]	5	braun	braun
1:1000000	10 $CdSO_4 \cdot {}^8/_3\,H_2O$	5	rotgelb	rosa
1:1000000	10 KH_2AsO_4	5	rotbraun	„
1:1000000	10 $KSbOC_4H_4O_6 \cdot {}^1/_2\,H_2O$.	5	bräunlichrot	farblos
1:1000000	10 $(NH_4)_2SnCl_6$[1]	5	gelblich	gelblich
1:10000	0,1 $CoSO_4 \cdot 7\,H_2O$	3	rotbraun	rosa
1:100000	1 $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$.....	5	rotgelb	grünlich
1:100000	1 $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$.	5	graubraun	schwach graubraun
1:1000000	10 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\,H_2O$	5	rotbraun	rosa
1:100000	1 $Cr_2(SO_4)_3$.....	5	grünlichgelb	gelbgrün
1:1000000	10 $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$.....	5	rotgelb	rosa
1:1000000	10 $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	3	rotbraun	„
1:1000000	10 $Ca(NO_3)_2$	5	„	schwach rotbraun
1:1000000	10 $Sr(NO_3)_2$.....	5	„	rosa
1:1000000	10 $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	5	„	farblos
1:1000000	10 $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	5	„	rosa
1:1000000	10 NaCl	5	rotgelb	farblos
1:1000000	10 KNO_3	10	braunrot	„
1:1000000	10 NH_4NO_3	5	rotbraun	„
1:1000000	10 $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$[3] ...	3	„	rosa
1:1000000	10 $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$[3]	5	rotgelb	farblos
1:100000	1 KBr	10	rotbraun	„
1:100000	1 KJ	5	„	rosa

[1] Fremdsalz kann unschädlich gemacht werden.
[2] Fremdsalz stört.
[3] Neutralisiert.

In Gegenwart von 0,01 γ Vanadin färbt sich die Probe bei Wasserbadtemperatur nach 3 Minuten braunrot, während die Vergleichsprobe nur schwach orange getönt ist.

Die 0,001 γ Vanadin enthaltende Probe färbt sich bei Wasserbadtemperatur nach 7 Minuten braunrot, die Vergleichsprobe erscheint nur schwach orange getönt.

Zwischen der Farbe der 0,0001 γ Vanadin enthaltenden Probe und der der Vergleichsprobe ist selbst nach längerem Stehen auf dem Wasserbade kein Unterschied wahrnehmbar.

Die Empfindlichkeit des Vanadinnachweises nach der beschriebenen Methode ist also folgende: die *Erfassungsgrenze* beträgt 0,001 γ, die *Grenzkonzentration* 1:5000000000. Es wurde somit festgestellt, daß in Gegenwart von Oxin die hundertfach geringere Menge Vanadin erfaßbar ist als bei Abwesenheit von Oxin.

Tabelle VI enthält die Ergebnisse von Versuchen, die die Brauchbarkeit der Methode in Gegenwart der am häufigsten vorkommenden Kationen und Anionen zum Gegenstande hatten.

Silber stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Natriumchlorid unschädlich gemacht werden.

Blei stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Natriumsulfat unschädlich gemacht werden.

Ammoniumstannichlorid stört den Vanadinnachweis, kann aber mit 10 cg Kaliumoxalat unwirksam gemacht werden.

Cupriionen stören den Vanadinnachweis.

Zusammenfassung.

Die Verfasser haben sechs Reaktionen des Vanadins gefunden, bei denen seine Gegenwart durch katalytische Wirkung erwiesen wird. Es wurde festgestellt, daß o-Oxychinolin die katalytische Wirkung des Vanadins stark aktiviert, wodurch die Empfindlichkeit der Reaktion gesteigert werden kann. Empfindlichkeit und Grenzverhältnisse dieser aktivierten Farbreaktionen wurden ermittelt.

Summary.

The authors have discovered six reactions of vanadium in which its presence is made evident through the catalytic action it exerts. It is shown that 8-hydroxyquinoline markedly activates the catalytic action of vanadium, and the sensitivity of the reaction can thereby be increased. The sensitivities and limiting conditions of these activated colour reactions have been ascertained.

Résumé.

Les auteurs ont trouvé six réactions du vanadium où la présence de cet élément est démontrée par son action catalytique. On a constaté, que l'o-oxyquinoline peut activer fortement l'action catalytique du vanadium, par laquelle la sensibilité de la réaction est augmentée. La sensibilité et les proportions des limites de cette réaction colorante ont été déterminées.

Aus dem Analytischen und Pharmazeutisch-chemischen Institut der kgl. ung. *Pázmány Péter*-Universität, Budapest. Vorstand: Prof. Dr. *T. Széki.*

Die quantitative Bestimmung von Vanadin mittels aktivierter Katalyse.

Von

L. Szebellédy und **M. Ajtai.**

(Eingelangt am 30. Juli 1938.)

Als Gegenstand unserer Untersuchungen wählten wir den in einer der vorhergehenden Arbeiten[1] beschriebenen Nachweis bzw. die Bestimmung des Vanadins mit Brenzcatechin, Paraphenetidin und Kaliumbromat. Diese Reaktion ist für den beabsichtigten Zweck geeignet, weil sie bei Zimmertemperatur verläuft, empfindlich ist, durch fremde Kationen nicht beeinflußt wird und weil ferner eine geringe Veränderung der anwesenden Vanadinmenge eine große Veränderung der Reaktionsgeschwindigkeit bewirkt.

Es wird der Vanadinnachweis nach der in der erwähnten Arbeit beschriebenen Methode ausgeführt und beobachtet, wieviel Zeit verläuft, bis eine gewisse Farbintensität erreicht wird. Man findet, daß die hierzu nötige Zeit um so größer ist, je weniger Vanadin die Probe enthält. Die Reaktionszeit kann genau gemessen werden, wenn ein Instrument angewendet wird, mit welchem eine genaue Beobachtung der Farbintensität des Reaktionsgemisches möglich ist. Wir fanden, daß das Mikrophotometer nach *P. Krumholz*[2] sich am besten für diesen Zweck eignet.

Wir führten Versuche aus, um festzustellen, ob ein rotes, gelbes, blaues oder grünes Filter am besten der Messung entspräche, d. h. es mußte untersucht werden, für welches Licht der als Reaktionsprodukt entstehende Farbstoff die größte Absorption aufweist. Wir maßen zunächst unter Einschaltung des grünen Filters die Zeit, während welcher der Zeiger des Galvanometers bei einer bestimmten Reagenzienkonzentration in Gegenwart von 0,01 γ Vanadin vom 80. Skalenteil bis zum 70. Skalenteil zurückging. Daraufhin bestimmten wir, wieviel Skalenteile der Zeiger während der gleichen Zeit unter Zwischenschaltung der anderen drei Filter zurückging, vom 80. Skalenteil aus gerechnet, bei gleicher

[1] S. 72 des vorliegenden Heftes.

[2] *P. Krumholz,* Mikrochemie **20,** 227 (1936).

Reagenzienkonzentration und in Gegenwart der gleichen Menge Vanadin. Es ergab sich folgendes:

grünes	Filter:	10,0	Skalenteile,
gelbes	„ :	8,5	„ ,
blaues	„ :	5,0	„ ,
rotes	„ :	3,8	„ .

Es erwies sich demnach die Durchführung der Versuche mit grünem Filter als zweckmäßig.

Als Reaktionszeit wählten wir die Zeitspanne vom Beginn der Reaktion, bis der Zeiger des Galvanometers den 50. Skalenteil erreichte. Nach den Messungen von *Krumholz* ist nämlich der Fehler des Instruments um den 50. Skalenteil herum am kleinsten.

Zur Bestimmung des Vanadingehaltes einer Natriummetavanadatlösung unbekannter Konzentration arbeiteten wir zwei Methoden aus. Bei dem ersten Verfahren werden drei Beobachtungsreihen durchgeführt und das Ergebnis durch Rechnung daraus erhalten. Bei der zweiten Methode werden zwei Beobachtungsreihen durchgeführt und das Resultat wird aus einer graphischen Darstellung abgelesen.

Erste Bestimmungsmethode.

Für die quantitative Bestimmung des Vanadins sind nach unseren Versuchen folgende Reagenzien am geeignetsten:

1. 0,1%ige salzsaure Paraphenetidinlösung.
2. 5%ige Kaliumbromatlösung.
3. 1%ige frisch bereitete Brenzcatechinlösung. Eine Lösung, die älter als einen halben Tag ist, ist nicht gebrauchsfähig.

1 ccm der zu untersuchenden Lösung wird in einem sorgfältig gereinigten Reagensglas mit 1 ccm Paraphenetidinlösung und 1 ccm Brenzcatechinlösung versetzt und mit Wasser auf 4 ccm aufgefüllt. Nach dem Durchschütteln der Flüssigkeit wird aus einer „Ausblase"-Mikropipette möglichst rasch 1 ccm Kaliumbromatlösung zugegeben und sofort mehrmals geschüttelt. Im Moment der Zugabe der Lösung wird eine Stoppuhr in Gang gesetzt. Daraufhin wird 1 ccm des Reaktionsgemisches mittels einer Pipette herausgenommen, das optische Gefäß damit gefüllt und in das bereits vorbereitete Photometer gebracht. Der Zeiger des Galvanometers wird beobachtet und, sobald er den 50. Skalenteil erreicht, wird die Stoppuhr zum Stehen gebracht. Die so gemessene Zeit nennen wir t_x; die unbekannte Vanadinmenge bezeichnen wir mit x.

Die gleiche Messung wird mit einer Natriummetavanadatlösung bekannter Konzentration durchgeführt. Die gemessene Reaktionszeit bezeichnen wir mit t_a, die im optischen Gefäß befindliche Menge Vanadin mit a.

Endlich messen wir die Reaktionszeit bei einer Probe, welche kein

Vanadin enthält. Zwecks Zeitersparnis stoppt man in diesem Falle beim 90. Skalenteil ab. Es ist dies die Zeitspanne t_0'. In der Annahme, daß die Menge des entstehenden Farbstoffes proportional zur Zeit ist, kann man auf Grund des *Beer-Lambert*schen Gesetzes die Zeit berechnen, während welcher der Zeiger den 50. Skalenteil erreicht hätte:

$$t_0 = \frac{t_0' (\log 100 - \log 50)}{\log 100 - \log 90}. \tag{1}$$

Die Berechnung erfolgt durch Einigung der Daten der drei Messungen. Wir erweiterten die Rechnungen von *E. B. Sandell* und *I. M. Kolthoff*,[1] da diese nur in dem Falle gültig sind, wenn die Reaktionszeit ohne Katalysator praktisch unendlich groß ist. Wollen wir die ohne Vanadin gemessene Reaktionszeit als meßbare Menge in Betracht ziehen, so können wir den Vanadingehalt der Lösung nach der folgenden, analytisch zu vollkommen befriedigenden Resultaten führenden Methode berechnen.

Nach *E. B. Sandell* und *I. M. Kolthoff* ist die Reaktionszeit

$$t_x = k \frac{1}{x}$$

bei unverändertem Volumen

Ist in der Lösung kein Vanadin zugegen, ist also x unendlich klein, so ist t_x unendlich groß, wie es auch in dem obenerwähnten *Sandell-Kolthoff*schen besonderen System der Fall ist:

$$t_x = k \frac{1}{x} \longrightarrow \infty, \text{ wenn } x \longrightarrow 0.$$

Bei den katalytischen Reaktionen besitzt aber im allgemeinen auch der Vorgang ohne Katalysator eine meßbare Reaktionszeit. Diese Zeit kann bei der Berechnung derart in Betracht gezogen werden, daß in der katalysatorlosen Probe eine imaginäre Katalysatormenge x_0 angenommen wird, durch deren Wirkung die Reaktionszeit nun nicht unendlich groß, sondern meßbar ist:

$$t_0 = k \frac{1}{x_0}. \tag{2}$$

Diese imaginäre Vanadinmenge ist auch zugegen, wenn die Probe mit der Vanadinmenge x versetzt wird; es folgt daher für die Reaktionszeit:

$$t_x = k \frac{1}{x + x_0} \tag{3}$$

und aus den Gleichungen (2) und (3)

$$x = k \frac{t_0 - t_x}{t_0 t_x}. \tag{4}$$

t_x und t_0 sind bekannte Größen, k kann aus der in der zweiten Messung bestimmten Reaktionszeit der in Gegenwart der bekannten Vanadinmenge a verlaufenden Reaktion ausgedrückt werden:

$$a = k \frac{t_0 - t_a}{t_0 t_a}. \tag{5}$$

[1] *E. B. Sandell* und *I. M. Kolthoff*, Mikrochim. Acta **1**, 9 (1937).

Der hieraus erhaltene Wert von k wird in (4) eingesetzt:

$$x = a \frac{t_0 t_a - t_a t_x}{t_0 t_x - t_a t_x}. \tag{6}$$

Sämtliche Größen auf der rechten Seite der Gleichung sind bekannt, es kann demnach x berechnet werden.

Zweite Bestimmungsmethode.

Wir bestimmten bei verschiedenen Vanadinkonzentrationen die Zeit, welche vom Beginn der Reaktion verläuft, bis der Zeiger den 90., 80., 70. usw. Skalenteil erreicht. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefaßt.

Zeigerstand	0,020 γ V	0,014 γ V	0,010 γ V	0,006 γ V	0,002 γ V	0,000 γ V
	in Minuten					
90	—	—	—	0,77	2,53	12,5
80	—	—	1,27	1,73	4,83	—
70	—	1,32	1,98	2,78	7,47	—
60	—	1,83	2,70	3,90	10,0	—
50	1,66	2,38	3,50	5,17	12,8	—
40	2,17	3,05	4,48	6,70	—	—
30	2,80	3,85	5,63	8,57	—	—
20	3,65	4,92	7,22	11,0	—	—

Abb. 1 zeigt die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse. Es erwies sich als zweckmäßig, als Ordinaten die zehnfachen Logarithmen des Zeigerstandes aufzutragen.

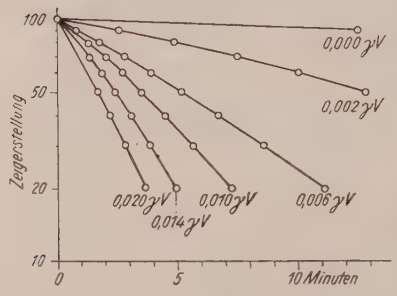


Abb. 1.

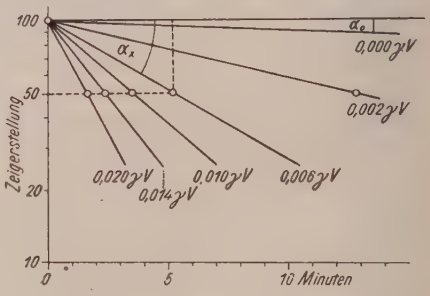


Abb. 2.

Wie aus der Abbildung ersichtlich, besteht zwischen der Reaktionszeit und dem Logarithmus des Zeigerstandes ein annähernd linearer Zusammenhang.

In Abb. 2 ist die gleiche graphische Darstellung schematisch ersichtlich, mit dem Unterschied, daß hier die zu den einzelnen Vanadinmengen

gehörenden Geraden nur durch Zuhilfenahme der durch den Zeigerstand 50 bestimmten Punkte konstruiert wurden.

Nennen wir den Winkel, den eine zu einem gewissen Vanadingehalt gehörige Gerade mit der Geraden A einschließt, α_x, den Winkel, den die Gerade der Probe ohne Vanadin mit der Geraden A einschließt, α_0. Es ist aus der Abbildung ersichtlich, daß

$$\log 100 - \log 50 = t_x \operatorname{tg} \alpha_x \tag{7}$$

und daraus

$$\frac{1}{t_x} = k' \operatorname{tg} \alpha_x \qquad (k' = \text{Proportionalitätsfaktor}); \tag{8}$$

ebenso ist

$$\frac{1}{t_0} = k' \operatorname{tg} \alpha_0; \tag{9}$$

nach Gleichung (4) ist

$$x = k \frac{t_0 - t_x}{t_0 t_x}, \tag{10}$$

daher ist

$$x = k \left(\frac{1}{t_x} - \frac{1}{t_0} \right). \tag{11}$$

Werden die Werte von $\frac{1}{t_x}$ und $\frac{1}{t_0}$ aus (8) und (9) eingesetzt, so ergibt sich

$$x = k \, (k' \operatorname{tg} \alpha_x - k' \operatorname{tg} \alpha_0). \tag{12}$$

Endlich können die Konstanten zusammengefaßt werden:

$$x = k'' \, (\operatorname{tg} \alpha_x - \operatorname{tg} \alpha_0).$$

Abb. 3 zeigt den linearen Zusammenhang zwischen der Vanadinmenge und der Differenz der Tangenten. Die Tangenten wurden aus der bis zum Zeigerstand 50 verstrichenen Reaktionszeit berechnet.

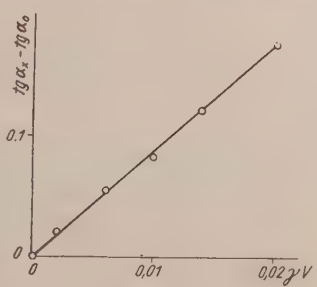


Abb. 3.

Auf Grund dieser Überlegungen gestaltet sich der ausführliche Gang der Bestimmung wie folgt:

Man mißt in der angeführten Weise unter Anwendung der zu untersuchenden Lösung die Zeit, welche vom Anfang der Reaktion verläuft, bis der Zeiger den 50. Skalenteil erreicht. Dann mißt man mit Hilfe einer kein Vanadin enthaltenden Vergleichslösung die Zeit t_0', die verläuft, bis der Zeiger den 90. Skalenteil erreicht, und berechnet auf Grund der Gleichung (1) den Wert t_0. Nun wird die Differenz der Tangenten berechnet:

$$\operatorname{tg} \alpha_x - \operatorname{tg} \alpha_0 = \frac{\log \frac{100}{50}}{t_x} - \frac{\log \frac{100}{50}}{t_0}.$$

Endlich sucht man in der graphischen Darstellung der Abb. 3 die zu der erhaltenen Größe gehörige Vanadinmenge. Die Abszisse gibt die in dem optischen Gefäß enthaltene Vanadinmenge an, die der fünfte Teil des Vanadingehaltes der zu untersuchenden Lösung ist (s. oben).

Es wurden Versuche ausgeführt, um festzustellen, inwiefern die Änderung der Konzentration der Reagenzien und der Temperatur die Messung beeinflußt. Wir bestimmten den ($\mathrm{tg}\,\alpha_x - \mathrm{tg}\,\alpha_0$)-Wert bei verschiedenen Reagenskonzentrationen und Temperaturen in Gegenwart von 0,01 γ Vanadin.

Änderung der Konzentration der Paraphenetidinlösung:

Konzentration der salzsauren Paraphenetidinlösung	$\mathrm{tg}\,\alpha_x - \mathrm{tg}\,\alpha_0$
0,050%	0,0486
0,075%	0,0878
0,100%	0,0908

Änderung der Konzentration der Kaliumbromatlösung:

Konzentration der $KBrO_3$-Lösung	$\mathrm{tg}\,\alpha_x - \mathrm{tg}\,\alpha_0$
2,50%	0,1275
3,75%	0,0918
5,00%	0,0915

Änderung der Konzentration der Brenzcatechinlösung:

Konzentration der Brenzcatechinlösung	$\mathrm{tg}\,\alpha_x - \mathrm{tg}\,\alpha_0$
0,5%	0,0389
1,0%	0,0828
2,0%	0,0970

Änderung der Temperatur:

Temperatur	$\mathrm{tg}\,\alpha_x - \mathrm{tg}\,\alpha_0$
20° C	0,0910
35° C	0,1448
50° C	0,3495

Wir bestimmten den Vanadingehalt von Natriummetavanadatlösungen verschiedener Verdünnung nach der beschriebenen Methode, wobei sich folgende Resultate ergaben:

Einwaage von V in γ	t_x (50)[1] in Min.	V gefunden in γ	Δ V in γ	Fehler in %
0,002	12,8	0,00218	0,00018	8,3
0,006	5,17	0,00606	0,00006	0,91
0,010	3,50	0,00924	0,00076	8,2
0,014	2,38	0,0138	0,0002	1,4
0,020	1,66	0,0199	0,0001	0,5

[1] Die Zahl in der Klammer bedeutet den Zeigerstand zum Schluß der Reaktion.

Reaktionszeit der Probe ohne Vanadin: die Zeit, bis der Zeiger vom Beginn der Reaktion den 90. Skalenteil erreicht, $t_0' = 12{,}5$ Min.; $t_0 = 80{,}0$ Min. Temperatur: 18 bis 20° C.

Bei Bestimmungen von Mengen unter 0,001 γ ist es zweckmäßig, als Aktivator eine 2%ige Brenzcatechinlösung zu verwenden. Einige Versuche dieser Art sind in der nachstehenden Tabelle wiedergegeben.

Einwaage von V in γ	t_x (70)[1] in Min.	V gefunden in γ	Δ V in γ	Fehler in %
0,0006	17,30	0,000625	0,000025	4,2
0,0010	12,20	0,00105	0,00005	4,8
0,0016	8,88	0,00160	—	—

Reaktionszeit der Probe ohne Vanadin: die Zeit, bis der Zeiger vom Beginn der Reaktion den 89. Skalenteil erreicht. $t_0' = 14{,}13$ Min.; $t_0 = 81{,}7$ Min. Temperatur: 20 bis 21,5° C.

Die obere Grenze der Bestimmungen liegt bei 0,1 γ, weil eine größere Vanadatmenge schon durch Oxydation merkbare Mengen Farbstoff erzeugt. Wir führten einige Bestimmungen in der Nähe der oberen Grenze aus. Mit 0,5%iger Brenzcatechinlösung ergab sich folgendes:

Einwaage von V in γ	t_x (30)[1] in Min.	V gefunden in γ	Δ V in γ	Fehler in %
0,04	3,22	0,0396	0,0004	1,0
0,10	1,28	0,10	—	—

Reaktionszeit der Probe ohne Vanadin: vom Beginn der Reaktion, bis der Zeiger den 95. Skalenteil erreicht, $t_0' = 15{,}00$ Min.: $t_0 = 188$ Min. Temperatur: 18 bis 19° C.

Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß die erläuterte Methode befriedigende Resultate liefert. In einzelnen Fällen ergeben sich größere Abweichungen, deren Ursache wahrscheinlich die trotz peinlicher Sauberkeit unvermeidlichen störenden Verunreinigungen sind.

Zusammenfassung.

Es wurden zwei Verfahren ausgearbeitet, um Vanadin mit Hilfe von aktivierter Katalyse zu bestimmen. Die Methodik ist geeignet, kleinste Spuren von Vanadin (bis herab zu 0,0006 γ) mit ausreichender Genauigkeit zu ermitteln. Es werden Beleganalysen mitgeteilt.

[1] Die Zahl in der Klammer bedeutet den Zeigerstand zum Schluß der Reaktion.

Summary.

Two procedures for the determination of vanadium have been worked out, based on activated catalysis, which allow minimal traces (down to 0,0006 γ) of vanadium to be determined with adequate accuracy. Comparison analyses are given in the paper.

Résumé.

On a élaboré deux procédés pour exécuter le dosage du vanadium à l'aide d'une catalyse activée. La méthode est apte à la détermination des plus petites traces de vanadium (jusqu'à 0,0006 γ) avec une précision suffisante. On communique des analyses documentaires.

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität J. Piłsudski in Warschau.
Vorstand: Prof. Dr. *W. Orlowski.*

Eine quantitative chemische Methode zur Bestimmung des Mucin-(Schleim-) Gehaltes im Magensaft, Speichel und Sputum.

Von

J. Glass.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 8. August 1938.)

Das Problem des Magenschleims sowie der pathologischen Veränderungen der Schleimabsonderung ist bis jetzt nicht genügend erforscht. Die Ursache der Mangelhaftigkeit diesbezüglicher Kenntnisse ist auf den Mangel an einwandfreien quantitativen Methoden zur Bestimmung des Mucins zurückzuführen.

Im klinischen Betrieb wird die Menge des Schleims im Magensaft hauptsächlich nach der Viskosität des Magensaftes rein visuell geschätzt. Dieses Verfahren ist vom physiko-chemischen Standpunkt aus ganz falsch, weil die Viskosität des Magenschleims von der aktuellen Reaktion des Milieus, d. h. vom p_H des Magensaftes abhängt. Es ergibt sich aus den Untersuchungen von *G. Katsch*[1] und *F. Baltzer*[2] sowie von *Bucher*[3] und von *A. Mahlo* und *Mulli*,[4] daß die Acidität des Magensaftes für die Viskosität des Mucins ausschlaggebend ist, was sich mit den Grundvorstellungen der physikalischen Chemie der Eiweißkörper gut in Einklang bringen läßt. Deshalb entspricht auch die *Straußsche* Methode der Messung des Schleimgehaltes nach der Filtrationsgeschwindigkeit des Magensaftes nicht den analytischen Erfordernissen. Wenn man noch dazu bedenkt, wie stark die Speichelbeimengung zum Magensaft dessen Viskosität beeinflußt, so ist das Bedürfnis nach einer einwandfreien chemischen Methode zu wissenschaftlichen Zwecken verständlich.

Der Vorschlag von *Dienst*,[5] der die Menge des Magenmucins nach dem Gehalt an Gesamt-N im Magensaft schätzen wollte, hat gar keine Begründung. Obwohl der Gehalt an Eiweißkörpern gering ist, so entsprechen doch die

[1] *G. Katsch, F. Baltzer* und *Brink,* Arch. Verdauungskrankh. **1934**, Nr. 1—2.

[2] *F. Baltzer,* Arch. Verdauungskrankh. **56**, 35 (1934); Biochem. Z. **264**, 28 (1933); Arch. Verdauungskrankh. **62**, 113 (1937).

[3] *Bucher,* nach *A. Mahlo.*

[4] *A. Mahlo* und *Mulli,* Münch. med. Wschr. **1936**, Nr. 31; Dtsch. med. Wschr. **1934**, Nr. 25, 43.

[5] *Dienst,* Dtsch. Arch. klin. Med. **171**, 52 (1931).

Polypeptide in manchen Fällen bis zu 30 bis 40% des Gesamt-N im Magensaft, wie aus den Untersuchungen von *A. Fidler* an unserer Klinik hervorgeht.

Die Methode von *A. Mahlo*,[1] die auf der Fällung von Mucin mit Methylalkohol oder Aceton und Bestimmung der Menge der vom Niederschlag gebundenen Lauge beruht, genügt für wissenschaftliche Zwecke nicht. Je nach der Menge der mitgefällten Eiweißkörper, deren Pufferkapazität sich anders als die des Mucins gestaltet, wird eine verschiedene Menge der Lauge von derselben Quantität des Mucins gebunden. Jede Verunreinigung von Magensaft mit Blut, Galle oder alimentärem Eiweiß ändert die Pufferkapazität des Mucins stark und stellt eine Fehlerquelle dar.

Was die Methode von *Baltzer*[2] anbelangt, die in ihrer letzten Ausführung auf der Fällung von Mucin mit Sulfosalicylsäure-Aceton-Gemisch und Bestimmung von dessen Reduktionsfähigkeit nach *Hagedorn-Jensen* beruht, wobei von dem erhaltenen Wert der nach Zugabe von Sulfosalicylsäure nephelometrisch bestimmte Eiweißwert abgezogen wird, so ist sie auch nicht einwandfrei. Die Opalescenz, die nach der Zugabe von Sulfosalicylsäure zum Magensaft entsteht und die von *Baltzer* als Eiweißopalescenz gedeutet wird, hat nach unseren Versuchen eine andere Bedeutung. Wenn man den Magensaft durch Zugabe des gleichen Volumens 15- oder 10%iger Trichloressigsäure enteiweißt und nachher dialysiert und elektrodialysiert, wodurch alle anderen Körper außer Mucin entfernt werden, und wenn man nun das während der Elektrodialyse gefällte Mucin in $^1/_{20}$ n-NaOH löst und hierauf mit Sulfosalicylsäure (oder auch mit Trichloressigsäure) versetzt, so entsteht eine je nach dem Gehalt des Mucins mehr oder weniger ausgesprochene Opalescenz oder Trübung. Es ist dabei ganz ausgeschlossen, daß hier Serumeiweiß vorhanden ist. Wir haben dieselbe Lösung mit Aceton versetzt und den Niederschlag nach mehrtägigem Austrocknen im Vakuumexsiccator gewogen und darin den N-Gehalt bestimmt. Es zeigte sich, daß der N-Gehalt durchaus nicht dem Serumeiweiß entsprach, sondern, wie bei Mucin, zwischen 6 und 7% schwankte. Dies erscheint als Beweis, daß bei der *Baltzer*schen Methode die Eiweißkorrektur, die mit Hilfe der Sulfosalicylsäuretrübung bestimmt wird, nicht richtig ist, weil dabei die Mucinopalescenz mitwirkt.

Die in letzter Zeit in Frankreich veröffentlichte Methode von *Ch. Garin, P. Bernay* und *D. Vincent*,[3] der die nephelometrische Messung der Mucinopalescenz nach Zugabe von 3%iger Essigsäure zugrunde gelegt ist, ist nach dem Mucinstandard des Schweinemagens geeicht, wodurch sie nur relative Werte gibt. Dabei ist bei ihr der Eiweißfehler nicht ausgeschaltet, weshalb die Methode nicht ganz verläßlich ist.

Begründung der eigenen Methode.

Es zeigte sich bei unseren Bestimmungen der Jodbindungsfähigkeit von verschiedenen Körperflüssigkeiten, daß die verschiedenen Magensäfte verschiedene Mengen Jod pro Volumseinheit binden, auch wenn die

---

[1] *A. Mahlo*, Arch. Verdauungskrankh. **60**, 179 (1936); Fschr. Ther. **1935**, Nr. 1, 16.

[2] *F. Baltzer*, vgl. Fußnote 2, S. 95.

[3] *Ch. Garin, P. Bernay* und *D. Vincent*, Arch. Mal. Appar. digest. (Fr.) **27**, Nr. 7, (1937).

Acidität der Magensäfte auf dasselbe p_H gebracht wurde. Da theoretisch die Jodbindungsfähigkeit verschiedenen im Magensaft vorhandenen Körpern zukommen kann, so untersuchten wir mehrere in Frage kommende Körper auf ihr Jodbindungsvermögen, wobei sich zeigte, daß unter ihnen das Mucin die stärkste Jodbindungsfähigkeit aufweist. Wir prüften zuerst das elektrodialytisch gereinigte Mucin des Schweinemagens, das uns freundlicherweise von der Firma Nordmark in Hamburg zugesandt worden war. Es zeigte sich, wie im voraus zu erwarten war, daß die Jodbindungsfähigkeit nicht nur dem Mucin, sondern auch den Serumeiweißkörpern, dem Pepsin sowie den Polypeptiden und verschiedenen Aminosäuren in verschiedenem Maße zukommt. In der Abb. 1 sind die Jodbindungskurven von Serumalbumin, Serumeuglobulin, von Schweinemagenmucin „Nordmark" und von menschlichem Magen- und Sputummucin aufgezeichnet. Die Serumeiweißkörper sind nach der Methode von Prof. *St. Z. Przyłęcki* entlipoidiert, mit Ammoniumsulfat fraktioniert, dialysiert und elektrodialysiert und in verdünnter Lauge gelöst. Das menschliche Mucin wurde nach dem weiter unten angegebenen Verfahren dargestellt und elektrodialytisch gereinigt, wobei der N-Gehalt nach *Parnas-Wagner* bestimmt wurde. Es ergibt sich aus diesen Kurven, daß die höchste Jodbindungskurve dem Magensaftmucin zukommt. Bei der Untersuchung der Aminosäuren zeigte sich, daß die stärkste Jodbindungsfähigkeit den Aminosäuren zu eigen ist, die im Mucin enthalten sind, und zwar dem Histidin, dem Tyrosin und dem Cystin (s. Tabelle I).

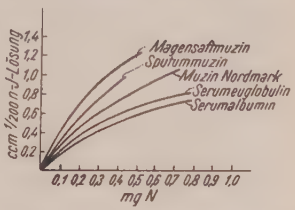


Abb. 1. Die Jodbindungskurven verschiedener Mucine und Serumeiweisse (pro N-Einheit berechnet).

Tabelle I. Das Jodbindungsvermögen von 10 mg Substanz (nach der weiter unten angegebenen Methode bei demselben p_H bestimmt).

	$^1/_{100}$ n-Jodlösung in ccm
Mucin des menschlichen Magensaftes	0,85
Mucin „Nordmark" (aus dem Schweinemagen hergestellt)	0,66
Serumalbumin (entlipoidiert und elektrodialysiert)	0,54
Serumeuglobulin (entlipoidiert u. elektrodialysiert)	0,57
Pepton Witte	0,54
Glycylglycin	0,20
Tyrosin	1,05
Cl-Histidin	0,90
Cystin	0,80
Leucin	0,44
Asparaginsäure	0,17
Pepsin	0,05

Das Jodbindungsvermögen konnte zur Ausarbeitung der Methode erst dann benützt werden, wenn alle anderen im Magensaft vorhandenen jod-

bindenden Körper aus dem Mucin entfernt waren. Zur Trennung des Mucins von anderen Eiweißkörpern benützten wir zuerst die Trichloressigsäure, wobei sich zeigte, daß das Mucin in den flüssigen und wenig viskosen Magensäften von der Trichloressigsäure nicht gefällt wird, unabhängig von der Säurekonzentration.

So zeigte sich z. B., daß ein Magensaft, mit der gleichen Menge 5%iger Trichloressigsäure versetzt, eine Mucinkonzentration (bei unserer weiter unten angegebenen Methode) von 137 mg% hatte. Bei Verwendung von 10%iger Trichloressigsäure wurde der gleiche Mucinwert von 135 mg% und bei 30%iger Trichloressigsäure einer von 144 mg% gefunden.

In einem anderen Magensaft betrug z. B. der Mucinwert bei 20%iger Säurekonzentration 150 mg%, bei 25% 136 mg%, bei 30% 150 mg%, bei 35% 153 mg% und schließlich bei 40%iger Trichloressigsäurekonzentration 147 mg%.

Anders ist es aber, wenn der Magensaft eiweißreich ist. In solchen Magensäften geht bei hohen Trichloressigsäurekonzentrationen ein Teil des Eiweißes durch das Filter, so daß man zu hohe Werte bekommt.

So erwies es sich z. B., daß, wenn der Magensaft bei Zugabe von 3% Serum zu gleichen Teilen mit der Trichloressigsäure versetzt wird, das Jodbindungsvermögen des mit Aceton gefällten Filtrates bei Verwendung von 20%iger Säure von 0,59 auf 0,69 steigt, von 0,59 auf 0,73 bei 30%iger Trichloressigsäure und von 0,58 auf 0,76 bei Verwendung von 40%iger Säure.

In einem anderen Magensaft z. B. stieg entsprechend der Jodwert des Acetonpräcipitats des Trichloressigsäurefiltrates bei 20%iger Säure von 0,36 auf 0,47, bei 25%iger Säure von 0,37 auf 0,54 und schließlich bei 30%iger Säure von 0,38 auf 0,60 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung.

Wenn man aber dagegen eine geringere Trichloressigsäurekonzentration wählt, so bekommt man im Filtrat sehr naheliegende oder die gleichen Zahlen, ganz gleich, ob man mit reinem oder mit einem mit Serum oder Eiweiß versetzten Magensaft arbeitet. Am meisten geeignet erwies sich die 8%ige Trichloressigsäure-Endkonzentration (2 Volumina Magensaft, 1 Volumen Wasser und 1 Volumen 32%ige Trichloressigsäure).

So wurden z. B. folgende Werte festgestellt: 1. im reinen Magensaft Nr. 1: 0,36 mg%; in demselben Magensaft, jedoch mit 3% Serum: 0,35 mg%; 2. im reinen Magensaft Nr. 2: 0,59 mg%; in demselben Magensaft nach Zugabe von 3% Serum: 0,54 mg%; 3. im reinen Magensaft Nr. 3: 0,43 mg%; im selben Magensaft nach Zugabe von 4% Serum: 0,48 mg%. Die Differenzen liegen im Bereich der Fehlergrenzen der Methode.

Das nach der Fällung mit Trichloressigsäure erhaltene Filtrat zeigt je nach der Menge des anwesenden Mucins eine mehr oder weniger ausgesprochene Opalescenz, die weder durch die Filtration mit Papier- oder Schottschen Glasfiltern noch durch Zentrifugieren beseitigt werden kann; es bildet sich auch dann kein Niederschlag, wenn man das Filtrat tagelang stehen läßt. Diese Opalescenz ist nur auf das Vorhandensein von Mucin im sauren Milieu zurückzuführen, was durch die Versuche mit elektrodialysiertem Mucin bewiesen wurde.

Im Gegensatz dazu wird im stark viskosen Magensaft ein Teil des Mucins durch die Zugabe von Trichloressigsäure gefällt. Daß hier der Niederschlag nicht nur von der Serumeiweißfällung gebildet ist, geht aus folgender Tatsache hervor: Löst man den Niederschlag durch Zugabe von $^1/_4$ seines Volumens an 20%iger Natronlauge auf und versetzt die Lösung wieder mit der gleichen Menge an 32%iger Trichloressigsäure, so entsteht jetzt nur eine ganz geringe Fällung, das Filtrat dagegen zeigt eine starke Opalescenz, die sich weder durch Zentrifugieren noch durch Filtration entfernen läßt. Wenn man dieses Filtrat mit Aceton versetzt und den entstandenen Niederschlag von der klaren Lösung trennt, trocknet und seinen N-Gehalt bestimmt, so erhält man die N-Zahlen, die weit unterhalb der N-Zahlen der Serumeiweißkörper liegen und 6 bis 7% betragen. Es handelt sich also hier nicht um Serumeiweißkörper, da sie auch nach dem Lösen in Lauge durch Trichloressigsäure in entsprechender Konzentration völlig gefällt werden und einen höheren N-Gehalt aufweisen. Es liegen ferner auch keine Polypeptide vor, weil dieselbe Erscheinung auch nach Dialyse und Elektrodialyse des Filtrates vorkommt. Die Fällung wird von einer Mucinfraktion hervorgerufen, die nach vorangehender Lösung in Lauge von der Trichloressigsäure nicht gefällt wird.

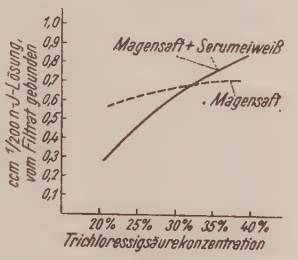


Abb. 2. Die Abhängigkeit des Jodbindungsvermögens des Trichloressigsäurefiltrates von der Konzentration der Säure.

Genau so verhält sich auffallenderweise der Speichel. Wenn man ihn mit Trichloressigsäure versetzt, so entsteht in diesem Falle ein starker Niederschlag und das Filtrat enthält nur eine spärliche Menge von jodbindenden Substanzen. Versetzt man aber zuerst den Speichel mit 20%iger Natronlauge (1 Teil 20%iger Lauge auf 4 Teile Speichel) und gibt dann zu der Lösung das gleiche Volumen (5 Teile) an 32%iger Trichloressigsäure, so entsteht ein sehr geringer Niederschlag, hingegen weist das Filtrat eine starke Opalescenz auf und enthält bis zehnmal so viel an jodbindenden Substanzen wie vorher.

Die durch Aceton hervorgerufene Fällung in mucinreichen Trichloressigsäurefiltraten der zuerst mit Lauge versetzten Magensäfte enthält kein Eiweiß oder Eiweißspaltprodukte, die sich unter dem Einfluß von Lauge bilden können. Wir haben bei verschiedenen Trichloressigsäurekonzentrationen das Jodbindungsvermögen des mit Aceton gefällten Filtrates mit demselben nach vorangehender Zugabe von Serumeiweiß verglichen. Es zeigt sich, wenn man die 32%ige Trichloressigsäure im gleichen Volumen zu dem mit Lauge versetzten Magensaft zugibt, daß die Jodwerte im Filtrat in beiden Fällen gleichbleiben. Bei der höheren Konzentration der Säure geht dagegen ein Teil des Eiweißes in das

Filtrat über, und bei kleineren Konzentrationen wird ein Teil des Mucins mitgefällt und bleibt mit dem Eiweiß auf dem Filter (s. Abb. 2).

Nach der Festlegung der richtigen Trichloressigsäurekonzentration führten wir noch mehrere Kontrollversuche aus, wobei wir die Jodbindung der mit Aceton gefällten Filtrate von verschiedenen reinen und mit Serum versetzten und nachher wie oben behandelten Magensäften bestimmten.

Es wurden z. B. folgende innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegenden Werte erhalten: im Magensaft Nr. 1 0,24, und nach Zugabe von 3% Serum 0,29 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung; im Magensaft Nr. 2 vor der Zugabe von Serum 0,48 und nach der Verdünnung mit 2% Serum 0,43 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung; im Magensaft Nr. 3 vor der Zugabe von Serum 0,65, nach dem Versetzen mit 3% Serum 0,63 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung usw.

Mehrere weitere Kontrollversuche, die in der Originalarbeit[1] nachzulesen sind, haben ergeben, daß durch vorangehende Zugabe von Lauge und Verwendung entsprechender Trichloressigsäurekonzentration eine Trennung zwischen dem mit Trichloressigsäure fällbaren Anteil des Mucins und den anderen Eiweißkörpern möglich ist.[2] Somit unterscheiden wir

[1] *J. Glass,* Polsk. Arch. Med. Wewn. **16**, 262 (1938).

[2] In seiner interessanten und gut begründeten Arbeit über das Protein und das Mucin im Magensaft schreibt *Baltzer,* daß die Trichloressigsäure, die das Mucin nicht fällt und gleichzeitig als Schutzkolloid das Eiweiß vor Ausfällung schützt, zur Trennung des Eiweißes von Mucin ungeeignet ist. In diesem Zusammenhang weist er auf die Arbeit von *Anrep* hin, indem er schreibt: „Diejenigen Eiweißmittel, die eine alleinige Fällung von Protein bedingen würden und den Schleim gelöst lassen, wie Trichloressigsäure, vermögen das Protein nicht dem Schutzkolloid Mucin zu entreißen (*Anrep*)." — Dieser Satz muß auf ein Versehen zurückzuführen sein, weil in keiner der *Anrep*schen Arbeiten über den submaxillären Schleim, die in dem J. of Physiol. **54**, **57** und **58** publiziert worden sind, eine solche Schlußfolgerung zu finden ist. Soweit ich feststellen konnte, hat *Anrep* keine diesbezüglichen Befunde publiziert. Dagegen findet man in seiner Arbeit im Bd. 57 eine Stelle, wo er schreibt, daß künftig ein Versuch gemacht werden solle, mit Hilfe von Trichloressigsäure diese beiden Körper zu trennen. Jedoch hat er, soviel ich weiß, sich auch später darüber nicht geäußert.

Ich glaube im Gegenteil, auf Grund meiner Versuche annehmen zu dürfen, daß bei einer optimalen Trichloressigsäurekonzentration und bei keinem extrem großen Eiweißgehalt des Magensaftes das Mucin von dem Protein sich trennen läßt, soweit mit unseren Methoden diese Trennung überhaupt möglich ist. Bei sehr großen Eiweißmengen, z. B. wenn der Magensaft nach Fleischgenuß ausgehebert wird, kann eine Mitfällung von Mucin in dem reichlichen Eiweißpräcipitat und dadurch eine Verminderung des gefundenen Mucinwertes vorkommen, was wir in unseren Kontrollversuchen festgestellt haben und worüber wir noch berichten werden. Diese Verluste können bis 20, vielleicht auch 25% des Mucingehaltes betragen, wenn man die Trichloressigsäurekonzentration bei 8% festlegt und der Eiweißgehalt im Magensaft mindestens 2 bis $3^0/_{00}$ beträgt. Solche Werte findet man im Magensaft nur

im Magensaft zwei Fraktionen von Mucin: 1. die mit Trichloressigsäure direkt nicht fällbare Fraktion; 2. die mit Trichloressigsäure erst nach dem vorausgehenden Lösen in Lauge indirekt nicht fällbare Fraktion. Über die chemischen Eigenschaften dieser beiden Fraktionen und über die Unterschiede in ihren physiko-chemischen und chemischen Eigenschaften werden wir in einer demnächst erscheinenden Mitteilung berichten.

Eine weitere Trennung des Mucins von anderen jodbindenden Substanzen, die im Magensaft vorkommen, wurde mit Hilfe der von *Baltzer*[1] zur Mucinausfällung empfohlenen Acetonfällung vorgenommen. Zur Fällung von Mucin eignet sich am besten die 50%ige Konzentration von Aceton (Filtrat und Aceton zu gleichen Teilen). Nach dieser Fällung, die sich am besten bei 37° im Thermostaten ausführen läßt, kann im Filtrat kein Mucin mehr nachgewiesen werden. Je größer der Mucingehalt in der Lösung ist, desto schneller geht die Ausfällung vor sich. Während jedoch *Baltzer* die Mucinausfällung mit einem Aceton-Sulfosalicylsäure-Gemisch vornimmt, führen wir sie mit reinem Aceton bei Anwesenheit von Trichloressigsäure in der Lösung aus.

Folgende Tatsachen beweisen, daß durch eine derartige Acetonfällung nur Mucin und keine anderen jodbindenden Substanzen niedergeschlagen werden:

1. in den Filtraten nach der Trichloressigsäurefällung bei entsprechender Säurekonzentration findet sich kein Serumeiweiß;

2. Pepsin wird durch die Trichloressigsäure gefällt, wie wir uns an Modellversuchen überzeugen konnten;

3. weder die Aminosäuren noch die Polypeptide werden vom Aceton in dieser Konzentration gefällt;

4. in dem Filtrat nach der Acetonfällung findet man reichlich Polypeptide, die in großen Mengen mit Phosphorwolframsäure aus dem Filtrat niedergeschlagen werden können;

nach Fleischgenuß oder bei großen Blutbeimengungen. Sonst kommen derartige Werte im Magensaft praktisch nicht vor.

Eine Hemmung der Eiweißfällung wegen der Schutzwirkung des Mucins bei unserer Trichloressigsäurekonzentration haben wir dagegen in keinem von unseren mit Magensaft nach Serumzusatz angestellten Kontrollversuchen gefunden. Dies würde sich unmittelbar an der Steigerung des Jodbindungsvermögens des Filtrates wahrnehmen lassen, was nicht der Fall war. Übrigens ist bei unserer Methode der Eiweißfehler noch dadurch kleiner geworden, daß 1. das Aceton nur etwa 50% des gegebenenfalls im Filtrat vorhandenen Proteins fällt und 2. das Jodbindungsvermögen des Proteins 2- bis 3mal kleiner als das des Mucins ist. Wenn wir also sogar annähmen, was nicht der Fall ist, daß ein Teil des Eiweißes wegen der schutzkolloidalen Wirkung des Mucins in das Filtrat übergeht, so würde dessen Endeffekt, pro Einheit Stickstoff, nur auf $^1/_4$ bis $^1/_6$ reduziert werden. Da unsere Methode auf den Mucinstickstoff geeicht ist, ist der Eiweißfehler auch dadurch stark vermindert.

[1] *F. Baltzer*, a. a. O. (s. Fußnote 2, S. 95).

5. der Acetonniederschlag des Trichloressigsäurefiltrates enthält nur 6 bis 7% N (in einem Falle sogar noch weniger), wie aus unseren eigenen Untersuchungen, die sich mit den Angaben von *Baltzer* decken, hervorgeht; diese Werte entsprechen dem N-Gehalt des Mucins, wie es auch von den amerikanischen Forschern an der Northwestern University gefunden wurde;

6. die stark jodbindende Ascorbinsäure ist in dem durch Aceton bewirkten Niederschlag nicht enthalten, was wir bei den Kontrollversuchen mit Hilfe von *Tilmanns* Reagens feststellten;

7. der Acetonniederschlag weist reduzierende Eigenschaften auf (vgl. *Baltzer*) und gibt schon in geringster Konzentration mit α-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure die *Molisch*-Reaktion; diese fällt hier bedeutend stärker aus als in einer Lösung von Serumeiweiß von derselben N-Konzentration, was aus unseren Befunden hervorgeht;

8. den wichtigsten Beweis bieten unsere vergleichenden Bestimmungen des Stickstoffgehaltes und des Jodbindungsvermögens des aus dem Trichloressigsäurefiltrat gefällten Mucins des Magensaftes vor und nach der Elektrodialyse, die in der Originalarbeit[1] beschrieben sind. Es zeigte sich, daß die Jodbindungsfähigkeit beider Lösungen, pro Einheit Stickstoff berechnet, ganz identisch ist, was beweist, daß die Acetonfällung des Trichloressigsäurefiltrates des Magensaftes nur Mucin und keine anderen jodbindenden Stoffe enthält. Ein solches Resultat wäre bei Anwesenheit anderer jodbindender und stickstoffhaltiger Körper (Polypeptide, Aminosäuren, Pepsin usw., die alle dialysierbar sind) ausgeschlossen.

Diese Versuche wurden auf folgende Weise ausgeführt:

Es wurden bei 6 gesunden und kranken, nüchternen Personen etwa je 150 ccm Magensaft gewonnen, filtriert, das Filtrat mit dem gleichen Volumen an 16%iger Trichloressigsäure versetzt und durch ein Blaubandfilter Nr. 589 an Schleicher und Schüll zweimal filtriert. Das Filtrat wurde in zwei Teile geteilt. Die eine Hälfte wurde mit Aceton gefällt, zentrifugiert und die Fällung nach Entfernen von Aceton in $^1/_{20}$ n-NaOH gelöst. Die zweite Hälfte dagegen wurde 2 Tage lang in Cellophansäckchen dialysiert, nachher in *Paulis*chen Mikroelektrodialysatoren unter ständiger Kontrolle durch Leitfähigkeitsbestimmungen elektrodialysiert und das Elektrodialysat, das einen Niederschlag von während der Elektrodialyse zum Teil ausgefälltem Mucin aufwies, mit Hilfe von $^1/_{20}$ n-NaOH in Lösung gebracht. Nun wurde das Elektrodialysat mit dem gleichen Volumen an 16%iger Trichloressigsäure versetzt und durch das oben angegebene Filter filtriert. Das Filtrat zeigte eine starke Opalescenz, die nach dem Entfernen von Eiweiß durch die Trichloressigsäure sowie der Polypeptide durch die Elektrodialyse nur vom Mucin verursacht sein konnte. Aus dieser stark opalescierenden Lösung wurde jetzt mit Hilfe von Aceton das Mucin gefällt, abzentrifugiert und nach Entfernen von Aceton in $^1/_{20}$ n-NaOH gelöst.

[1] *J. Glass*, Polsk. Arch. Med. Wewn. **16**, 262 (1938).

Es wurden auf diese Weise von demselben Magensaftgemisch zwei Lösungen bereitet, wobei die eine eine reine Mucinlösung und die zweite eine Lösung des Acetonniederschlages des Trichloressigsäurefiltrates darstellte. Nun wurden in beiden Lösungen die N-Werte nach *Parnas-Wagner* bestimmt und die Jodbindungskurven nach der weiter unten angegebenen Methode festgelegt. Die Resultate sind in der Tabelle II angegeben. Die Identität der beiden Jodbindungskurven, nach dem N-Gehalt berechnet, ist vollkommen.

Bei dem weiteren Ausbau der Methode mußten noch mehrere Punkte berücksichtigt werden, die in der Originalarbeit angegeben sind und hier nur angedeutet werden können, und zwar:

1. Die Abhängigkeit der Jodbindung vom p_H des Milieus, und zwar das Steigen des Jodbindungsvermögens im alkalischen Bereich und das Sinken im sauren; daraus ergab sich die Notwendigkeit des Festhaltens am genauen p_H bei der Messung der Jodbindung; das p_H wurde aus bestimmten Gründen auf 6,8 festgelegt.

Tabelle II.

N-Gehalt in den beiden Lösungen in mg%	Von der elektrodialysierten Mucinlösung gebundene $^1/_{200}$ n-Jodlösung in ccm	Von dem Acetonniederschlag des Trichloressigsäurefiltrates gebundene $^1/_{200}$ n-Jodlösung in ccm
0,035	0,22	0,23
0,07	0,33	0,33
0,14	0,54	0,55
0,21	0,73	0,73
0,35	1,10	1,11

Aus unseren diesbezüglichen Messungen, die in der Originalarbeit angegeben sind, geht hervor, daß die Jodbindung des Mucins in der alkalischen Lösung stärker zunimmt und in der sauren stärker abnimmt, als es nach dem jeweiligen Gehalt an Lauge bzw. Säure in der Lösung zu erwarten war. Am meisten geeignet erschien uns das p_H dicht unterhalb des Neutralpunktes, wobei sich als Indikator am besten das Gemisch von Neutralrot und Methylenblau bewährt hat, das bei einem p_H von 6,8 einen Umschlag von Grün ins Violett zeigt.

2. Wir konnten zur Jodtitration als Indikator wegen der Farbe der neutralisierten Mucinlösung nicht die Stärke verwenden. Wir haben deshalb einen Indikator gewählt, von dem wir glauben, daß er zu diesem Zwecke noch nicht verwendet worden ist, und zwar das Methylenblau, das in seiner Kette mehrere Doppelbindungen hat und sich aus diesem Grunde ausgezeichnet jodieren läßt. Es verliert dabei seine blaue Farbe und wird braun. Bei der Rücktitration mit Thiosulfat wird diese Verbindung jedoch wieder gespalten, das Methylenblau wird in Freiheit gesetzt, wodurch die Farbe der Lösung von Braun in Schmutziggrün, Grün, Grünlichblau und schließlich reines Blau umschlägt. Bei einer richtig gewählten Konzentration von Jod und Methylenblau (etwa 0,3 ccm 0,1%iger Methylenblaulösung, zirka 1 ccm $^1/_{100}$ n-Jodlösung in einem Volumen von 8 bis 10 ccm) ist der Umschlag sehr scharf. Dabei tritt kein Nachbläuen der Lösung auf, das manchmal bei der Titration mit Stärke so unangenehm empfunden wird.

3. Bei der Festlegung des Jodbindungsvermögens mußte noch der Zeitpunkt der Rücktitration mit Thiosulfat festgelegt werden, weil die Jodbindung in bestimmten Grenzen von der Reaktionszeit abhängt. Bei unserer Versuchsanordnung nimmt sie in den ersten 15 Minuten stets zu, so daß sie z. B. nach 15 Minuten um rund $^1/_3$ höher liegt als nach 1 Minute. Es ergab sich

aus unseren Messungen, daß die Jodwerte zwischen der 15. und 20. Minute sich schon kaum mehr ändern, so daß dieser Zeitpunkt bei der Methode als der geeignetste erschien.

4. Die Standardisierung der Methode nach der freundlichen Empfehlung von Herrn Prof. Dr. *Przyłecki*, dem Vorstand des Institutes für Physiologische Chemie an der Universität J. Piłsudski in Warschau, wurde auf folgende Weise ausgeführt:

8 magengesunden Personen wurden in nüchternem Zustande etwa je 200 ccm Magensaft entnommen, abzentrifugiert und filtriert. Ein Teil davon wurde mit $^1/_4$ seines Volumens an 20%iger Natronlauge und nachher mit dem gleichen Volumen an 32%iger Trichloressigsäure versetzt, ein anderer Teil direkt mit dem gleichen Volumen an 16%iger Trichloressigsäure vermischt. Die beiden Lösungen wurden durch 7-cm-Blaubandfilter Nr. 589 von Schleicher und Schüll filtriert und die beiden Filtrate einer zweitägigen Dialyse in Cellophansäckchen und hierauf der Elektrodialyse in *Pauli*schen Mikroelektrodialysatoren unter Kontrolle durch Leitfähigkeitsbestimmungen unterworfen. Sodann wurden die Elektrodialysate samt dem während der Elektrodialyse ausgefällten Mucinanteil durch Zugabe von einigen Kubikzentimetern $^1/_{20}$ n-NaOH gelöst, mit dem gleichen Volumen an 16%iger Trichloressigsäure versetzt, wieder filtriert und schließlich mit dem gleichen Volumen an Aceton versetzt. Nun wurde das im Thermostat während 24 Stunden ausgefällte Mucin vom Aceton abzentrifugiert und nach Entfernen von Aceton in einigen Kubikzentimetern $^1/_{20}$ n-NaOH gelöst, worauf der Stickstoffgehalt nach *Parnas-Wagner* bestimmt wurde.

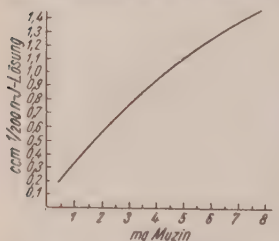


Abb. 3. Die Jodbindungskurve des Mucinstandards aus dem menschlichen Magensaft.

Auf diese Weise wurden die beiden Standards der beiden Mucinfraktionen (der direkt und der indirekt mit Trichloressigsäure nicht fällbaren) aus menschlichem Magensaft angefertigt, wobei die weitere Eichung sich, wie folgt, gestaltete:

Da die Bindung des Jods an Mucin nicht der Gleichung einer Geraden entspricht, so wurde eine empirische Eichkurve festgelegt, die ein Produkt von mehreren Dutzend Doppelbestimmungen in verschiedenen enteiweißten und elektrodialytisch gereinigten Mucinlösungen darstellt. Es zeigte sich, daß sowohl die direkt nicht fällbare als auch die indirekt mit Trichloressigsäure nicht fällbare Mucinfraktion dieselbe Eichkurve hat. Diese Eichkurve ist in der Abb. 3 angegeben. Dieselbe Eichkurve kommt auch, wie wir festgestellt haben, dem Speichelmucin zu. Die weiter unten angegebene Berechnungstabelle ist nach diesen Eichkurven berechnet. Da unsere N-Bestimmungen am menschlichen Magensaftmucinstandard, der im Vacuumexsiccator bei 37° im Thermostaten ausgetrocknet wurde, einen N-Gehalt von 6 bis 7% ergaben, haben wir als Grundlage der Berechnung den N-Gehalt des Magensaftmucins mit 7% angenommen, was mit den Angaben sowohl *Baltzers* als auch der amerikanischen Autoren in Einklang steht. Um also die in der Berechnungstabelle angegebenen

Werte in Mucin-N-Gehalt umzurechnen, sind sie mit $^7/_{100}$ zu multiplizieren.

Die Jodbindungskurve des Sputummucins verläuft etwas anders als die des Magensaftmucins. Die entsprechende Eichkurve wurde auch an einem elektrodialytisch gereinigten Sputummucin festgelegt (s. die mehrfach zitierte Originalarbeit). Die entsprechende Berechnungstabelle, die weiter unten angeführt ist, wurde nach dieser Kurve konstruiert. Da der N-Gehalt des Sputummucins höher liegt als der des Magensaftmucins und etwa 10% beträgt, wobei unsere Bestimmungen und Befunde mit den Angaben anderer, älterer Autoren übereinstimmen, muß man bei der Berechnung des Mucin-N-Gehaltes die in der Berechnungstabelle angegebenen Werte durch 10 dividieren.

Ausführung der Methode.

Reagenzien.

1. 20%ige Natronlauge; 2. 32%ige Trichloressigsäure; 3. Aceton; 4. $^1/_{10}$ n-Natronlauge; 5. $^1/_{50}$ n-Salzsäure, frisch aus $^1/_{10}$ n-Vorratslösung bereitet; 6. $^1/_{200}$ n-Jodlösung, in dunkler Flasche aufbewahrt; 7. $^1/_{200}$ n-Thiosulfatlösung, frisch aus der $^1/_{10}$ n-Vorratslösung durch Verdünnen mit Wasser im Meßkolben hergestellt; 8. 0,03%ige Neutralrotlösung, in dunkler Flasche aufbewahrt und alle 2 bis 3 Tage frisch durch Verdünnen mit destilliertem Wasser im Meßkolben aus der 0,3%igen Vorratslösung hergestellt; 9. 0,025%ige wäßrige Methylenblaulösung.

A. Bestimmung des Mucingehaltes im Magensaft.

Sie kann entweder im gesamten Magensaft (1) oder auch separat in den Schleimflocken (2) und im flüssigen Anteil des Magensaftes ausgeführt werden, wobei hier zwei Mucinfraktionen, und zwar die mit Trichloressigsäure indirekt nicht fällbare (3) und die direkt mit Trichloressigsäure nicht fällbare Fraktion (4), isoliert und bestimmt werden können.

Je nach dem Zweck der Untersuchung kann man beliebig die Bestimmungsart wählen, wobei aber anscheinend für die klinischen Zwecke die Bestimmung des Mucins im gesamten Magensaft und der direkt nicht fällbaren Mucinfraktion im flüssigen Anteil des Magensaftes am wichtigsten erscheinen, was in der demnächst erscheinenden Mitteilung eingehend besprochen werden wird.

1. Bestimmung des Mucins im gesamten Magensaft. Der ausgeheberte Magensaft wird in einen kleinen Meßzylinder gebracht, worauf nach kurzem Stehen die obere Schaum- und Sputumschicht mit einem Glasstab tunlichst gut abgetrennt wird. Nun gibt man zum Magensaft $^1/_4$ seines Volumens an 20%iger Natronlauge (1 ccm dieser Natronlauge für je 4 ccm Magensaft), schüttelt mehrmals um und verrührt auch, wenn nötig, kräftig mit einem Glasstab, wodurch die im Magensaft vorhandenen Schleimflocken gelöst werden. Darnach bringt man 5 ccm dieser Lösung in ein Reagensglas, versetzt mit 5 ccm 32%iger Trichloressigsäure, schüttelt mehrmals um, läßt einige Minuten stehen und filtriert durch einen kleinen Trichter in ein Reagensglas (unter Verwendung eines 7-cm-Blaubandfilters Nr. 589 von Schleicher und Schüll). Sodann verfährt man nach *5* weiter.

2. Bestimmung des Mucins in den Schleimflocken. Man bringt den ausgeheberten Magensaft in einen engen Zylinder, worauf man nach kurzem Stehen die obere Sputum- und Schaumschicht mit einem Glasstab entfernt. Man vermischt den Magensaft möglichst gut und gibt 10 ccm davon in ein 15 ccm fassendes graduiertes Zentrifugenglas. Diese Menge ist meistens für die Bestimmung der beiden Mucinfraktionen in dem flüssigen Anteil des Magensaftes sowie für die Bestimmung des Mucingehaltes in den Schleimflocken ausreichend. Falls aber der Flockenanteil des Magensaftes zu groß ist, muß man 12 bis 15 ccm des Magensaftes in das Zentrifugenglas bringen.

Man zentrifugiert 10 bis 15 Minuten, bis eine gute Trennung der klaren flüssigen Schicht von den abzentrifugierten Schleimflocken erzielt ist, worauf man das Volumen der Schleimflocken mit Hilfe der Graduierung abliest, den flüssigen Anteil des Magensaftes abgießt und den Rest absaugt. Man gibt nun zu den überbleibenden Schleimflocken 1 ccm 20%iger Natronlauge und etwa 1 ccm destilliertes Wasser und verrührt gut mit einem Glasstab, worauf man die Lösung in einen verschließbaren, 10 ccm fassenden Zylinder bringt, mit 1 ccm Wasser nachspült und mit destilliertem Wasser auf 5 ccm auffüllt. Nun fügt man 5 ccm 32%iger Trichloressigsäure zu, schüttelt mehrmals um, läßt einige Minuten stehen und filtriert durch einen kleinen mit dem oben angegebenen Blaubandfilter versehenen Trichter. Hierauf verfährt man nach *5* weiter.

3. Bestimmung der mit der Trichloressigsäure indirekt nicht fällbaren Mucinfraktion im flüssigen Anteil des Magensaftes. Man versetzt 4 ccm des nach *2* abgetrennten flüssigen Magensaftes mit 1 ccm 20%iger Natronlauge, schüttelt mehrmals um, gibt 5 ccm 32%iger Trichloressigsäure hinzu, vermischt die Lösung gut, läßt einige Minuten stehen und filtriert dann durch einen kleinen Trichter in ein Reagensglas (unter Verwendung eines 7-cm-Blaubandfilters). Man kann auch, wenn nur wenig Magensaft vorliegt, mit bloß 3,2 ccm Magensaft, 0,8 ccm Lauge und 4,0 ccm Trichloressigsäure auskommen. Man verfährt nach *5* weiter.

4. Bestimmung der mit Trichloressigsäure direkt nicht fällbaren Mucinfraktion im flüssigen Anteil des Magensaftes. Man nimmt 4 ccm des flüssigen, nach *2* abgetrennten Magensaftes, versetzt ihn in einem Reagensglas mit 2 ccm destilliertem Wasser und 2 ccm 32%iger Trichloressigsäure (man kann auch, entsprechend 5 ccm Magensaft, 2,5 ccm Wasser und 2,5 ccm Trichloressigsäure anwenden, damit man schneller ein Filtrat erhält), schüttelt mehrmals um, läßt einige Minuten stehen und filtriert wie oben durch ein Blaubandfilter in ein Reagensglas. Man verfährt hierauf nach *5* weiter.

5. Man entnimmt von dem Trichloressigsäurefiltrat genau 5 ccm, bringt sie in ein 12 bis 15 ccm fassendes Zentrifugenglas mit engem Ende, gibt dazu 5 ccm Aceton, schließt mit einem Gummistopfen, kippt zweimal um und läßt im Thermostaten (oder Wasserbad) bei 37° $1^1/_2$ Stunden offenstehen. Während dieser Zeit fällt das Mucin in Flocken aus. Nun zentrifugiert man das Glas 5 Minuten mittels einer gewöhnlichen Laboratoriumszentrifuge, gießt mit einer schnellen Bewegung das Aceton vom Mucinniederschlag ab und wischt den Rand des Zentrifugenglases mit Gaze trocken. Der Mucinniederschlag bleibt im Glase haften, wobei 1 bis 2 Tropfen Aceton, die im Glase verbleiben, ohne Bedeutung sind, weil das Jodbindungsvermögen von 0,1 ccm Aceton weniger als 0,01 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung beträgt. Nun gibt man in das Glas 2 ccm $^1/_{10}$ n-Natronlauge und verrührt die Lösung gut mit einem schmalen Glasstab, bis sich der ganze Mucinniederschlag in der Lauge löst. Bei großen Mucinmengen muß man in seltenen Fällen noch 1 ccm Lauge hinzufügen,

um das Mucin zu lösen. Hierauf gießt man den Inhalt des Zentrifugenglases in ein breites Titrierglas von 5 cm Durchmesser, wie es zur Titration bei der *Hagedorn-Jensen*schen Zuckerbestimmungsmethode verwendet wird, und spült mit etwa 1 ccm destilliertem Wasser nach. Man fügt nun 0,25 ccm 0,03%ige Neutralrotlösung und 0,25 ccm 0,025%ige Methylenblaulösung hinzu und bringt die Flüssigkeit in demselben Glas mit Hilfe von $^1/_{50}$ n-Salzsäure auf ein p_H von 6,8. Man läßt aus einer Mikrobürette $^1/_{50}$ n-Salzsäure zu der Lösung zuerst schnell und dann tropfenweise bis zum Umschlag der Farbe von Grün nach Violett fließen. Der Umschlag muß scharf sein; im Falle des Nachbläuens der Lösung, das manchmal bei einer bestimmten Tropfenzahl erst nach einigen Sekunden eintritt, muß noch ein Tropfen Säure hinzugefügt werden. Nun gibt man aus einer anderen Mikrobürette in die Lösung genau 2 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung und danach 1 ccm derselben 0,025%igen Methylenblaulösung. Man läßt das offene Glas im Stativ genau 15 Minuten stehen. Sodann wird die Lösung in demselben Glas mit $^1/_{200}$ n-Thiosulfatlösung aus einer Mikrobürette zurücktitriert, und zwar bis zum Umschlag der bei einer bestimmten Tropfenzahl entstehenden grünlichblauen Verfärbung nach reinem Blau; diese Farbe soll sich bei weiterer Thiosulfatzugabe nicht mehr ändern. Die Titration muß bei Tageslicht ausgeführt werden. In den 15 Minuten Zwischenzeit, während der das Glas mit der mit Jod versetzten Mucinlösung im Stativ steht, führt man die Blindbestimmung aus. Man gibt dazu in zwei breite Titrationsgläser ungefähr 2 ccm destilliertes Wasser, etwa 1 ccm $^1/_{10}$ n-Natronlauge, je 0,25 ccm Neutralrot- und Methylenblaulösung, titriert wie oben mit $^1/_{50}$ n-Salzsäure bis zum Umschlag nach Violett, läßt aus der Bürette genau 2 ccm $^1/_{200}$ n-Jodlösung und 1 ccm Methylenblaulösung zufließen und titriert sofort mit der $^1/_{200}$ n-Thiosulfatlösung bis zum Umschlag von Grünlichblau nach reinem Blau.

Berechnungstabelle 1. Zur Berechnung des Mucingehaltes im Magensaft und im Speichel.

Verbrauch an $^1/_{200}$ n-Jodlösung[1] in ccm	Entsprechender Mucingehalt der Lösung in mg	Die für je 0,01 ccm verbrauchter Jodlösung zu den Mucinwerten zu addierende Korrektur in mg
0,15	0,23	0,040
0,20	0,43	0,045
0,25	0,65	0,045
0,30	0,87	0,045
0,35	1,10	0,045
0,40	1,32	0,045
0,45	1,55	0,050
0,50	1,80	0,050
0,55	2,05	0,050
0,60	2,30	0,050
0,65	2,55	0,050
0,70	2,80	0,050
0,75	3,05	0,055
0,80	3,32	0,055
0,85	3,60	0,060
0,90	3,90	0,060
0,95	4,20	0,060
1,00	4,50	0,060
1,05	4,80	0,060
1,10	5,10	0,060
1,15	5,40	0,065
1,20	5,72	0,065
1,25	6,05	0,070
1,30	6,40	0,070
1,35	6,75	0,070
1,40	7,10	0,070

[1] Differenz zwischen dem mittleren Thiosulfatwert aus den Blindversuchen und dem bei der Mucintitration erhaltenen Thiosulfatwert.

Man nimmt den Mittelwert aus beiden Blindbestimmungen, zieht davon den Thiosulfattitrationswert der Mucinlösung ab und entnimmt aus der Berechnungstabelle 1 den entsprechenden Mucinwert, der den Mucingehalt des Acetonniederschlages ausdrückt. Die weitere Berechnungsweise ist unten angegeben.

Berechnungstabelle 2. Zur Berechnung des Mucingehaltes im Sputum.

Verbrauch an $^1/_{200}$ n-Jodlösung[1] in ccm	Entsprechender Mucingehalt der Lösung in mg	Die für je 0,01 ccm verbrauchter Jodlösung zu den Mucinwerten zu addierende Korrektur in mg
0,15	0,36	0,045
0,20	0,60	0,045
0,25	0,82	0,045
0,30	1,05	0,045
0,35	1,26	0,045
0,40	1,48	0,045
0,45	1,70	0,045
0,50	1,92	0,050
0,55	2,15	0,050
0,60	2,40	0,050
0,65	2,65	0,055
0,70	2,92	0,055
0,75	3,20	0,060
0,80	3,50	0,070
0,85	3,85	0,070
0,90	4,20	0,070
0,95	4,55	0,070
1,00	4,88	0,070
1,05	5,23	0,070
1,10	5,57	0,070
1,15	5,92	0,075
1,20	6,30	0,075
1,25	6,67	0,075
1,30	7,05	0,075
1,35	7,42	0,075
1,40	7,80	0,075

Berechnung: Der Mucingehalt wird für 100 ccm Magensaft berechnet, indem man den aus der Berechnungstabelle 1 entnommenen Mucinwert bei der Bestimmung des Mucins im gesamten Magensaft (*1*) oder in dem flüssigen Anteil des Magensaftes (*3*) mit 50 und bei der Bestimmung der mit Trichloressigsäure nicht fällbaren Fraktion des Mucins (*4*) mit 40 multipliziert. (Dies geschieht deshalb, weil der Acetonniederschlag hier aus 2 bzw. 2,5 ccm Magensaft ausgefällt wurde.)

Beispiel: Blindversuch: 1,77; Thiosulfatwert bei der Bestimmung des indirekt nicht fällbaren Mucins des flüssigen Anteiles des Magensaftes: 1,33. Der Unterschied von 0,44 ccm entspricht dem Mucinwert von 1,50 mg. Man multipliziert diese Zahl mit 50 und erhält den Mucingehalt des flüssigen Anteiles des Magensaftes zu 75 mg%, ferner nach der Multiplikation mit $^7/_{100}$ den Wert von 5,25 mg% Mucinstickstoff.

Bei der Bestimmung des Mucingehaltes der Schleimflocken multipliziert man den aus der Berechnungstabelle entnommenen Mucinwert mit 2 und erhält so den Mucingehalt in den untersuchten Schleimflocken. Unter Berücksichtigung der Menge des untersuchten Magensaftes (10 oder 15 ccm) wird der Wert auf 100 ccm umgerechnet. Wenn z. B. der Mucingehalt der Schleimflocken aus 15 ccm Magensaft $1{,}32 \times 2 = 2{,}64$ mg beträgt, so ist der Mucingehalt der Schleimflocken von 100 ccm Magensaft gleich 17,6 mg. Man kann auch aus den Werten des indirekt nicht fällbaren Mucingehaltes im flüssigen Anteil des Magensaftes (in Milligrammprozent ausgedrückt $= a$) und dem Mucingehalt der Schleimflocken in 100 ccm Magensaft (b) unter Berücksichtigung des Volumsverhältnisses des flüssigen Anteiles des Magen-

[1] Differenz zwischen dem mittleren Thiosulfatwert aus den Blindversuchen und dem bei der Mucintitration erhaltenen Thiosulfatwert.

saftes (c) den Mucingehalt des gesamten Magensaftes nach der Formel $d = \frac{a \times c}{100} + b$ berechnen. Damit erübrigt sich die direkte Bestimmung des Mucins im gesamten Magensaft.

B. Mucinbestimmung im Sputum.

Man versetzt 10 ccm Sputum in einem Meßzylinder mit der gleichen Menge 10%iger Natronlauge, zerteilt es kräftig mit einem Glasstab und durch Umschütteln bis zu einer möglichst guten Homogenisierung und füllt mit destilliertem Wasser auf 25 ccm auf. Man entnimmt davon 5 ccm, versetzt mit 5 ccm 32%iger Trichloressigsäure, schüttelt mehrmals um, läßt einige Minuten stehen und filtriert durch den kleinen Trichter unter Verwendung eines Blaubandfilters Nr. 589 von *Sbhleicher* und *Schüll*. Fortsetzung: wie oben bei Magensaft unter *5* beschrieben. Der aus der Berechnungstabelle 2 abgelesene Mucinwert wird mit 100 multipliziert, woraus sich die Mucinkonzentration in Milligrammprozent ergibt. Sämtliche Kontrollversuche, die in der Originalarbeit angegeben sind, haben bewiesen, daß bei dieser Versuchsanordnung und bei den Eiweißmengen, die im Sputum vorkommen können, kein Serumeiweiß in das Filtrat übergeht; dadurch ist diese Fehlerquelle ausgeschaltet.

C. Mucinbestimmung im Speichel.

Diese wird genau so wie im Sputum ausgeführt. Die Berechnung geschieht aber nach der Magensaft-Mucinberechnungstabelle (Nr. 1), da die Jodbindungsfähigkeit des Speichelmucins identisch mit der des Magensaftes ist. Den aus der Tabelle erhaltenen Mucinwert multipliziert man bei 5 ccm Filtrat mit 100 und bekommt den Mucingehalt in Milligrammprozent.

Einige Bemerkungen zu der Methode.

Die Titrationsgefäße adsorbieren leicht das Methylenblau; sie werden am besten mit Aceton ausgespült und nachher mit destilliertem Wasser gewaschen. (Das Leitungswasser besitzt ein großes Jodbindungsvermögen.) Die farbigen Reagenzien, insbesondere die Neutralrotlösung (auch die 0,3%ige Stammlösung), müssen sehr häufig erneuert werden, weil schon nach einigen Tagen die Umschlagspunkte bei der Titration unscharf werden; dies bildet eine große Fehlerquelle. Insbesondere die Titration mit $^1/_{50}$ n-Salzsäure wird dadurch ungenau. Da bei dieser Titration ein Überschuß von 1 Tropfen Salzsäure eine Verminderung des Jodbindungsvermögens und dadurch des erhaltenen Mucinwertes um etwa 10% bedingt, ist dies ein sehr wichtiges Erfordernis der Methode. Bei jedem Zweifel an der Genauigkeit des Umschlagspunktes soll man zu der titrierten Lösung 1 bis 2 Tropfen $^1/_{10}$ n-Natronlauge hinzufügen und zum zweitenmal mit der Säure nachtitrieren. Bei frischen Indikatoren ist der Umschlagspunkt so scharf, daß bei einiger Übung jeder Zweifel ausgeschlossen ist. Die Jodlösung soll in die Bürette unmittelbar vor der Titration eingefüllt werden, um die Jodverflüchtigung zu verhindern.

Die Methode eignet sich ausgezeichnet zu *Serienbestimmungen;* man kann damit auf folgende Weise leicht bis zu 12 Bestimmungen nebeneinander ausführen: Man gibt zu sämtlichen untersuchten Magensäften, Sputum- oder Speichelfraktionen Lauge und Trichloressigsäure, filtriert alle Magensäfte gleichzeitig durch entsprechend viele Filter, versetzt alle Filtrate mit Aceton und bringt alle Zentrifugengläser zugleich in den Thermostaten. Nach Abzentrifugieren und Entfernen des Acetons löst man die Mucinniederschläge in

verdünnter Natronlauge und bringt sie der Reihe nach in die Titrationsgläser, die man in ein 12 Gläser fassendes Stativ stellt. Nun gibt man in jedes Glas Neutralrot- und Methylenblaulösung, worauf alle Proben der Reihe nach mit $^1/_{50}$ n-Salzsäure bis zum Umschlag nach Violett titriert werden. Man bringt dann in das erste Glas Jodlösung und Methylenblau, stellt genau den Zeitpunkt fest, worauf man der Reihe nach in alle Gläser Jod- und Methylenblaulösung gibt. Dies läßt sich leicht in wesentlich weniger als 15 Minuten ausführen. Genau nach 15 Minuten beginnt man die Rücktitration mit Thiosulfat in derselben Reihenfolge, also mit dem ersten Glas beginnend. Die Titration muß jetzt ziemlich schnell ausgeführt werden, damit die Zeit zwischen der letzten Jodzugabe und der letzten Thiosulfattitration nicht mehr als 20 Minuten in Anspruch nimmt. Dies ist bei einiger Übung ohne Mühe ausführbar. Auf diese Weise beträgt die Reaktionszeit der Jodbindung in allen Gläsern 15 bis 20 Minuten, was mit den Forderungen der Methode im Einklang steht.

Um die Genauigkeit der Methode nicht zu vermindern, soll stets mit den oben angegebenen Mengen von Magensaft, Sputum oder Speichel gearbeitet werden. Der Titrationsfehler um einen Tropfen (0,04 ccm) bei der Thiosulfattitration bedingt bei einer durchschnittlichen Mucinkonzentration von 150 mg% eine Differenz von 6,6% des Ausgangswertes. Dagegen kann der Fehler bei kleineren Magensaftquantitäten bis zum Doppelten betragen.

Die Parallelbestimmungen zeigten bei Kontrollversuchen Differenzen, die nicht mehr als 5% vom Mittelwert abwichen.

Die Anwendungsmöglichkeiten der Methode und die vorläufigen Ergebnisse.

Die angegebene Methode erlaubt eine genaue quantitative Mucinbestimmung im Magensaft, der im Zustande der Nüchternheit sowie nach verschiedenen Probefrühstücken ausgehebert worden ist, wie auch im Speichel und Sputum. Der Eiweißgehalt dieser Sekrete wirkt bei der Ausführung der Methode nicht störend, was in mannigfachen Kontrollversuchen bestätigt werden konnte. Nur bei sehr eiweißreichen Magensäften, wenn man z. B. die Ausheberung nach Fleischgenuß ausführt, ist es möglich, daß ein Teil des Mucins im Eiweißniederschlag auf dem Filter adsorbiert wird, wodurch in diesen Fällen bei der Mucinbestimmung sich ein zu kleiner Wert ergeben kann. Dies kommt aber nie bei den Eiweißmengen vor, die als pathologische Beimengung im Magensaft nüchterner Versuchspersonen oder in dem nach verschiedenen Probefrühstücken ausgeheberten Magensaft vorkommen, wovon wir uns in Kontrollversuchen bei entsprechender Zugabe von Eiweiß zu den untersuchten Magensäften überzeugten (s. unsere in der Originalarbeit wiedergegebenen Protokolle). Dasselbe gilt für die Mucinbestimmung im Sputum und Speichel. Die Beimengung der Galle wirkt nicht störend auf die Mucinbestimmung, da das Pseudomucin der Galle von der Trichloressigsäure gefällt wird; die Gallensäuren werden entweder von der Trichloressigsäure niedergeschlagen oder aber vom Aceton nicht gefällt.

Wie oben erwähnt, eignet sich die Methode sehr gut für Serienuntersuchungen (z. B. bei fraktionierter Ausheberung) und erlaubt Mucinbestimmungen in Schleimflocken wie auch im flüssigen Anteil des Magensaftes.

Der Mucingehalt der Schleimflocken scheint nach unserer bisherigen Erfahrung im Vergleich zu dem des flüssigen Anteiles des Magensaftes gering zu sein und beträgt nur 3 bis 20% des Gesamtmucingehaltes. In unseren bisherigen Versuchen schwankte der Mucingehalt der Schleimflocken aus 100 ccm Magensaft zwischen 5 und 72 mg.

Der Mucingehalt des flüssigen Teiles des Magensaftes ist bedeutend größer. Wir haben bis jetzt über 40 Magensäfte untersucht. Die entsprechenden Werte schwankten zwischen 65 und 320 mg%, wobei die höchsten Werte in den chronischen Gastritisfällen, bei Magengeschwüren und Pylorusstenosen gefunden wurden. Die genauen Angaben werden in einer kommenden Mitteilung berichtet werden. Der Gehalt an mit Trichloressigsäure direkt nicht fällbarer Fraktion des Mucins im flüssigen Anteil des Magensaftes schwankt bei den bisher von uns untersuchten Fällen zwischen 20 und 210 mg%; dabei ist auffällig, daß die hohen Werte bei nüchternen Versuchspersonen (über 100 mg%) fast ausschließlich in Fällen von Ulcus duodeni oder Superacidität vorkommen. Das gegenseitige Verhältnis zwischen den beiden Mucinwerten (die ohne bzw. nach Lösen in Lauge bestimmt wurden) schwankt außerordentlich je nach dem Fall. In den Fällen mit Superacidität ist das prozentuelle Verhältnis des mit Trichloressigsäure direkt nicht fällbaren Mucins zum indirekt nicht fällbaren am höchsten und beträgt bis 90%. Dabei hängt dieses Verhältnis nicht von der Verdünnung des Magensaftes ab. Wenn man den beliebigen Magensaft in verschiedenen Proportionen mit Wasser verdünnt, so bleibt das Verhältnis beider Fraktionen immer konstant, wovon wir uns mehrmals überzeugt haben.

Der Mucingehalt des Speichels beträgt zwischen 50 und 300 mg%, wovon der mit Trichloressigsäure direkt nicht fällbare Anteil des Mucins hier nur 10 bis 20% des Gesamtmucins ausmacht und sich zwischen 10 und 30 mg% bewegt. Wieweit die Beimischung des Speichels zum Magensaft die Verteilung der beiden Mucinfraktionen und den Gesamtmucingehalt des Magensaftes beeinflußt, kann in dieser Mitteilung nicht beantwortet werden. Es scheint jedoch nach unserer bisherigen Erfahrung, daß die Beimischung des Speichels den Gehalt der direkt nicht fällbaren Mucinfraktion sehr wenig beeinflußt. Dies beweisen auch unsere Modellversuche, die in der Originalarbeit angegeben sind. Im sauren Magensaft wird die Hauptmasse des Speichelmucins bei Kontakt mit der Säure ausgefällt; deshalb wird das Speichelmucin in den aciden Magensäften hauptsächlich in den Schleimflocken gefunden. Im Gegensatz dazu besteht bei den anaciden Magensäften eine große Wahrscheinlichkeit, daß ein beträchtlicher Prozentsatz des Schleims, der ihnen eine viskose und dem Speichel ähnliche schleimige Beschaffenheit verschafft, von dem verschluckten und veränderten Speichelmucin stammt. Darum gehört auch wahrscheinlich in diesen Magensäften die Hauptmenge des Mucins,

genau wie im Speichel, der mit Trichloressigsäure indirekt nicht fällbaren Fraktion an. Das Problem der Entstehungsorte der beiden Mucinfraktionen wird in der kommenden Mitteilung auf Grund von experimentellen Versuchen erörtert werden. Was die Mucinkonzentration im Sputum anbelangt, schwankt sie in den Grenzen von 30 bis 800 mg%; näheres darüber findet sich in der demnächst erscheinenden, mit Hilfe unserer Methode von *Z. Franz* an unserer Klinik ausgeführten Arbeit.

In der kommenden Mitteilung werden wir über die Anwendung unserer Methode zu klinischen Zwecken, insbesondere zur Diagnostik der Gastritiden, sowie über die pathologischen Veränderungen in dem Mucingehalt der Sekrete bei verschiedenen pathologischen Zuständen und unter verschiedenen pharmakologischen Einflüssen berichten.

Zusammenfassung.

Es wird eine quantitative Methode zur Bestimmung des Mucingehaltes im flüssigen Magensaft, in den darin enthaltenen Schleimflocken sowie im Speichel und Sputum beschrieben. Die Methode beruht auf der in Gegenwart von Methylenblau als Indikator ausgeführten Bestimmung des Jodbindungsvermögens des mit Aceton aus Trichloressigsäurefiltrat ausgefällten und auf ein konstantes p_H gebrachten Mucins. Die Methode eignet sich gut zu Serienbestimmungen und ist nach dem Stickstoffgehalt des elektrodialytisch gereinigten Mucins des menschlichen Magensaftes sowie des Sputums und Speichels geeicht. Es werden die vorläufigen Ergebnisse der Bestimmung des Mucins im Magensaft angegeben.

Summary.

A description is given of a quantitative method for the determination of mucine in the juices of the stomach, in the clots of phlegm contained in these, and in saliva and sputum. The procedure is based upon the determination of the capacity of the mucine to combine with iodine, methylene blue being used as indicator; the mucine has been previously precipitated by acetone from a filtrate containing trichloracetic acid, and brought to a constant p_H. The method is adapted for series determinations, and is standardised through the nitrogen content of mucine prepared from the juices of the human stomach, saliva or sputum, and purified by electrodialysis. Preliminary results for the determination of mucine in stomach juices are appended.

Résumé.

On décrit une méthode quantitative, qui peut servir à la détermination du contenu en »Mucin« dans le suc gastrique liquide, dans les flocons de mucosité contenus dedans, ainsi que dans la salive et le crachat. Le procédé base sur la détermination de la capacité du »Mucin« à se réunir avec l'iode, qu'on dose en présence du bleu methylène; le »Mucin« doit être précipité d'abord par addition d'acétone au filtrat de l'acide trichloracétique et porté à un p_H constant. La méthode est utilisable pour des déterminations en série (»Serienbestimmungen«) et elle se rapporte au contenu d'azote du »Mucin« du suc gastrique humain, ainsi que du crachat et de la salive, purifiés par électrodialyse. On communique les résultats reçus jusqu'à maintenant du dosage du »Mucin« dans le suc gastrique.

Dall'Istituto di Chimica Biologica della R. Università di Padova.

I fondamenti chimici e chimico-fisici della microdeterminazione colorimetrica dell'acido fosforico mediante l'azzurro di molibdeno.*

I. Metodi di dosaggio dell'ione fosforico.

Di

V. Zambotti.

(Eingelangt am 8. August 1938.)

Numerosi sono i metodi di determinazione dell'ione fosforico in materiale biologico elaborati nell'ultimo ventennio. Li possiamo suddividere in quattro gruppi: metodi gravimetrici, volumetrici, nefelometrici e colorimetrici.

A. Metodi gravimetrici.

Il metodo fondamentale è quello originario di *Pregl-Lieb* (1), che consiste essenzialmente nella precipitazione dell'ione fosforico come complesso fosfomolibdico e nel pesare quest'ultimo, dopo opportuno trattamento. Tutte le successive modificazioni riguardano sopratutto il trattamento del materiale, sul quale si esegue la determinazione.

Kuhn (2) ha potuto determinare con esso quantità di fosforo fino a mg. 0,03. *Holtz* (3) ha modificato il procedimento in modo da renderlo più sensibile. *Embden* (4) precipita l'ione fosforico sotto forma di un complesso di fosfomolibdato e stricnina. Con quest'ultimo metodo *Myrbäck* (5) ha dosato quantità di fosforo variabili da 0,2 a 0,05 mg. *Posternack* (6) scioglie il precipitato di fosfomolibdato in ammoniaca e lo riprecipita sotto forma di sale di bario per aumentarne il peso, mediante trattamento con cloruro di bario.

Anzicchè sotto forma di fosfomolibdato ammonico l'acido fosforico da qualche Autore fu dosato gravimetricamente sotto forma di fosfato ammonico magnesiaco senza però alcun vantaggio.

I metodi gravimetrici ebbero scarsa applicazione in biochimica, perchè presentano varie cause d'errore dovute sopratutto alla precipitazione e ai successivi lavaggi del precipitato.

* Diese Arbeit wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

B. Metodi volumetrici.

Il principio su cui si basano consiste nello spostamento della ammoniaca contenuta nel fosfato ammonico magnesiaco con idrato sodico e successiva titolazione dell'eccesso di base. Il primo a elaborare un metodo fondato su questo principio fu *Dienes* (7), ma i valori così trovati erano alquanto elevati, tanto che *P. Iversen* (8) ha dovuto introdurre un fattore di correzione. Qualche modificazione vantaggiosa a questo metodo fu apportata da *Kuhn* (9). *Smith-Brown* (10), *Soerensen* (11), *Stewald*, *Archibald* (12), *Samson* (13), *Machebœuf* (14), *Gaddum* (15) hanno apportato al metodo originario di *Dienes* piccole modificazioni di tecnica di scarso interesse. *Myrbäck* (16) a differenza di *Dienes* ha spostato l'ammoniaca dal complesso di fosfomolibdato e stricnina. L'ammoniaca veniva spostata con idrato sodico seminormale e rititolato l'eccesso di base nel solito modo.

Altri metodi si differenziano in quanto la determinazione dell'ammoniaca presente nel precipitato veniva fatta mediante micro-*Kjeldahl*.

Anche i metodi volumetrici hanno avute poche applicazioni in biochimica perchè affetti da numerose cause d'errore, la principale delle quali è dovuta all'incostanza del contenuto in ammoniaca, dato che la composizione del precipitato è varia, trattandosi di complessi non sempre chimicamente ben definiti. I risultati esatti essendo subordinati alla titolazione, usando fenolftaleina come indicatore, è necessario che l'idrato sodico impiegato sia assolutamente esente da carbonati.

C. Metodi nefelometrici.

L'applicazione della nefelometria alla determinazione in biochimica dell'acido fosforico spetta a *Bloor* (17), seguito da *Kleinmann* (18) e altri. Il principio su cui si basa questo processo consiste nel confronto del grado di intorbidamento che si ottiene precipitando l'acido fosforico mediante il reattivo *Pouget* e *Chauchak* (molibdato di stricnina) alquanto modificato. È da osservare che sulla formazione e grandezza delle particelle colloidali esercita notevole influenza la reazione, la temperatura e la concentrazione dei sali d'ammonio, fattori non sempre ben dominabili. *Juliusberger* (19) aggiunge un colloide protettore.

D. Metodi colorimetrici.

I metodi che hanno trovato maggior favore in biochimica per la loro praticità sono quelli colorimetrici. Questi consistono essenzialmente nel combinare l'acido fosforico con molibdato d'ammonio e nella successiva riduzione del complesso formatosi mediante un riduttore opportuno con conseguente sviluppo del colore.

Il primo a applicare questo metodo fu *Taylor* e *Miller* (20) (1914).

L'acido fosforico veniva precipitato come fosfomolibdato ammonico; il precipitato era poi ridisciolto e ridotto con fenilidrazina.

Le tappe fondamentali del progressivo miglioramento di questo metodo sono le seguenti: Eliminazione del processo di precipitazione del complesso e determinazione colorimetrica in ambiente acido.

Intorno a questi punti cardinali si sono sviluppate le modificazioni successive apportate da un numero grandissimo di AA.

Chi intraprende il dosaggio colorimetrico dell'acido fosforico e cerca di orientarsi per la scelta del metodo, si accorge che quasi ogni Autore, il quale si sia occupato dell'argomento, ha creduto necessario apportare qualche variazione, perchè nessuno dei metodi che egli aveva a disposizione gli erano sembrati soddisfacenti. Non esiste d'altra parte un lavoro nel quale le diverse modificazioni siano state vagliate da una critica fondata, in modo da eliminare quelle superflue e più ancora quelle in contrasto tra di loro. Si ha l'impressione che ciascuno abbia proceduto empiricamente senza preoccuparsi di discutere i fondamenti teorici su cui il metodo si appoggia e di esaminare da un punto di vista chimico e chimico-fisico le modificazioni che via via si sono accumulate per poterne valutare i vantaggi o l'inutilatà.

Questo è stato lo scopo delle ricerche del presente lavoro.

Meccanismo della reazione colorimetrica.

a) Formazione del complesso e condizioni per mantenerlo in soluzione.

Anche il dosamento colorimetrico dell'acido fosforico presuppone la formazione del complesso fosfomolibdico, come il metodo gravimetrico; questo complesso, anzicchè essere pesato sotto forma di precipitato, viene sottoposto alla azione di riducenti in modo da sviluppare un colore, dall'intensità del quale si desume la concentrazione dell'ione fosforico.

Osserviamo innanzi tutto che il complesso fosfomolibdico si forma per aggiunta di molibdato ammonico a una soluzione di fosfati, sia in ambiente neutro, sia in ambiente acido. È però da notare che solo i fosfati alcalini sono solubili in ambiente neutro e, poichè nel materiale di interesse biologico i fosfati si trovano in parte allo stato di sali alcalino terrosi, è evidente che per la formazione del complesso fosfomolibdico è necessario solubilizzarli e quindi bisogna operare sempre in ambiente acido; tanto più che in ambiente neutro la formazione del complesso fosfomolibdico non sembra essere quantitativa.

Del tutto da evitarsi è la formazione del complesso fosfomolibdico in ambiente alcalino, nel quale solo i fosfati alcalini sono solubili e inoltre, anche se in un primo momento questo complesso si forma, subito si decompone nei corpi di partenza. Vedremo subito come l'ambiente acido in cui viene a trovarsi disciolto il complesso fosfomolibdico rappresenti anche

una condizione *sine qua non* per la formazione e stabilità del colore che successivamente si deve ottenere per riduzione.

Taylor e *Miller* approfittando del fatto che il complesso fosfomolibdico è poco solubile, cercarono di attuare le condizioni migliori per poterlo separare quantitativamente. In tal modo essi miravano a isolare tutto l'acido fosforico e liberarlo dell'eccesso di reattivi usati. Su questo precipitato lavato e ridisciolto in acido solforico procedevano successivamente alla riduzione con conseguente sviluppo del colore.

Il meccanismo della reazione di precipitazione è il seguente: L'acido fosforico reagisce col molibdato ammonico secondo l'equazione:

$$H_3PO_4 + 12\,(NH_4)_2MoO_4 + 21\,HNO_3 = (NH_4)_3PO_4 \cdot 12\,MoO_4 + \\ + 21\,NH_4NO_3 + 12\,H_2O.$$

Trattando la soluzione di un fosfato con un piccolo eccesso di molibdato ammonico, in presenza di quantità sufficente di acido nitrico, precipita *quasi subito, all'ebolizione incipiente*, tutto l'acido fosforico come fosfomolibdato ammonico, giallo, cristallino; a freddo invece il precipitato per formarsi impiega un certo tempo.

Perchè la precipitazione sia quantitativa è necessario che per un grammo di anidride fosforica siano presenti in soluzione 11,6 g. di acido nitrico. È da tener presente che un forte eccesso di acido produce il ridiscioglimento del precipitato. L'azione solvente dell'acido nitrico viene per altro neutralizzata da un aumento di molibdato ammonico. Inoltre per la formazione quantitativa del sale è assolutamente necessaria l'aggiunta di nitrato ammonico e precisamente nella proporzione di circa il 5%.

Ora, come abbiamo visto, uno dei grandi vantaggi che si sono voluti realizzare mediante il metodo colorimetrico di dosaggio dell'acido fosforico [metodo di *Bel* e *Doisy* (21)] è stato appunto quello di eliminare la separazione del complesso fosfomolibdico sotto forma di precipitato, tanto più che, quanto si tratta di piccole quantità di acido fosforico, la precipitazione non è in senso assoluto quantitativa.

E poichè, in base al meccanismo di formazione del precipitato, questo è favorito dalla presenza di acido nitrico, di nitrato ammonico (aggiunto oppure formatosi durante la reazione) e dal calore, ne deriva che per realizzare lo scopo di mantenere in soluzione il complesso fosfomolibdico è indispensabile eliminare tali reattivi e operare a freddo.

All'acido nitrico si sostituisce l'acido solforico, il quale oltre favorire la solubilità del complesso, presenta anche il vantaggio di non esercitare in queste condizioni azione ossidante a differenza dell'acido nitrico. Non essendo a conoscenza di questi fondamenti della reazione, alcuni AA. operano a caldo, con che rendono meno facile lo stato di soluzione del complesso.

b) Riduzione del complesso fosfomolibdico con sviluppo del colore.

Formato il complesso fosfomolibdico in quelle condizioni d'ambiente che abbiamo descritte, necessarie affinchè esso resti in soluzione, si

aggiunge il riduttore, il quale provoca la formazione dell'azzurro di molibdeno.

Il problema che primo si presenta è la scelta del riduttore, in quanto ne furono proposti in numero grandissimo (idrochinone e fenoli diversi, acido 1-3-5-amino-naftol-solfonico [Eikonogen], cloruro stannoso, reattivo di *Zinadze*, ecc.). Non ho fatto ricerche comparative in proposito, ma è certo che l'idrochinone è quello preferito dalla maggioranza degli AA. e presenta il vantaggio di essere facilmente procurabile e conservabile.

Nella formazione dell'azzurro di molibdeno si crede abbia luogo la seguente reazione:

$$5\,(NH_4)_3\,PO_4 \cdot 12\,MoO_4 + 12\,\underset{\text{(idrochinone)}}{C_6H_4(OH)_2} + 60\,H_2O =$$

$$= \underset{\text{(azzurro di molibdeno)}}{12\,Mo_2O_5 \cdot 3\,MoO_3 \cdot 6\,H_2O} + 12\,\underset{\text{(chinone)}}{C_6H_4O_2} + 5\,(NH_4)_3\,PO_4.$$

Con altri tipi di riduttore la reazione è analoga.

Nel caso dell'idrochinone (e dei fenoli in genere) il processo di riduzione è accompagnato da una contemporanea ossidazione del fenolo che passa a chinone, corpo colorato in bruno.

Quest'ultima colorazione, sommandosi all'azzurro, rende meno netto il tono del colore; esso si può però eliminare per l'aggiunta del solfito o bisolfito di sodio, i quali ritrasformano il chinone formato in idrochinone incolore:

$$C_6H_4O_2 + NaHSO_3 + H_2O \rightleftarrows C_6H_4(OH)_2 + NaHSO_4.$$

Per l'aggiunta di solfito o bisolfito di sodio la tinta azzurra della soluzione diventa più brillante, evidentemente per la soppressione della tinta bruna del chinone. Ho pure osservato che dal punto di vista del dosamento colorimetrico, quando si usi un filtro di opportuna selettività, questa aggiunta non è necessaria. Essa invece è obbligatoria quando si renda eventualmente necessario diminuire l'acidità della soluzione in esame per portarla a quei limiti di p_H ai quali l'intensità della colorazione è stabile e proporzionale alla quantità di ione fosforico presente. Di ciò sarà detto in seguito.

La possibilità della determinazione colorimetrica dell'acido fosforico, che praticamente avviene sempre in eccesso di reattivo molibdico, presuppone che la riduzione del complesso fosfomolibdico sia limitata a quella parte dell'acido molibdico che è legata all'acido fosforico o, per lo meno, che, nelle condizioni in cui si opera, non si estenda all'eccesso di molibdato presente ancora libero.

Poichè si tratta di un punto fondamentale del metodo, non si riesce a spiegare come che i diversi AA. non si siano preoccupati di questa possibilità. È ben vero che qua e là nei diversi lavori che trattano dell'argomento, tale sospetto è prospettato, ma alla limitazione della riduzione

al solo complesso fosfomolibdico non si è data tutta l'importanza che essa merita, come è comprensibile nel caso specifico del metodo colorimetrico dell'acido fosforico.

Si è creduto che la riduzione dell'acido molibdico in eccesso, cioè di quello non legato all'acido fosforico, potesse essere proporzionale alla quantità di acido fosforico presente, per cui i risultati colorimetrici delle diverse determinazioni, se non erano confrontabili in senso assoluto, lo sarebbero stati in senso relativo, essendo legati da un costante coefficente di proporzionalità.

Evidentemente questa opinione è del tutto gratuita. Sarebbe necessario dimostrarla sperimentalmente, ciò che mi sono dispensato dal fare, perchè nessun logico fondamento chimico esiste, su cui ci si possa basare per ammettere che la riducibilità dell'eccesso di acido molibdico sia proporzionale alla quantità di fosfomolibdato presente.

Credo che alcuni abbiano pensato, ma non lo hanno espresso esplicitamente, che, mantenendo costanti tutte le altre condizioni di esperimento (concentrazione dei reattivi, p_H, temperatura ecc.), la partecipazione dell'acido molibdico libero alla riduzione e quindi alla formazione dell'intensità del colore doveva incidere sulle diverse determinazioni con una quantità costante, per cui i risultati potevano essere confrontabili essendo affetti tutti dallo stesso errore in più.

Anche questo semplicismo, quantunque appoggiato su una certa logicità, non mi sembra di attuabilità pratica, costringendo il ricercatore a mantenere le condizioni nelle quali compie il dosamento colorimetrico rigorosamente uguali in tutte le determinazioni, ciò che presuppone a priori la conoscenza press'a poco della quantità di acido fosforico che si vuol dosare.

Dall'altra parte si constata che tale rigorosità di equaglianza di condizioni sperimentali non è mai osservata dai diversi AA.

La questione che come abbiamo detto è fondamentale, poteva essere risolta solo mediante lo studio del meccanismo della reazione colorimetrica.

Bisognava anzitutto vedere se il molibdato d'ammonio viene o no ridotto dall'idrochinone *in assenza di fosfati*, e stabilirne le condizioni. Ricerche preliminari hanno fatto conoscere che la condizione che più di ogni altra deve essere presa in considerazione è la reazione dell'ambiente. Tale studio fu eseguito mediante il fotometro di *Pulfrich*.

I risultati ottenuti nelle esperienze eseguite a tale scopo sono raccolti nella fig. N. 1. Da essa risulta che il molibdato d'ammonio, in assenza di fosfati, viene ridotto solo entro determinati limiti di concentrazione di ioni idrogenici e precisamente in soluzioni di acido solforico variabili da 0,04 a 1,5 N (in presenza di molibdato d'ammonio in modo da ottenere una concentrazione di questo del 1%). Entro questi limiti di acidità si osserva che anche la riduzione è progressivamente crescente col tempo,

in quanto presumibilmente essa si compie lentamente fino a esaurimento di uno dei reattivi.

Ad acidità inferiori e superiori l'acido molibdico in assenza di fosfati non viene ridotto dall'idrochinone. La spiegazione di questo diverso comportamento è da ricercarsi nell'esistenza in soluzione di varie forme di acido molibdico, non tutte egualmente riducibili, tra loro in equilibrio, il quale è influenzato particolarmente dal grado di acidità.[1] Per la zona fortemente acida si può pensare che la riduzione non avvenga anche per un processo di demolizione dell'azzurro di molibdeno per opera dell'acido nel momento stesso in cui quello tenderebbe a formarsi[2] [*Ephraim* (23)].

In base a questi risultati si deduce, come primo corollario pratico, che la reazione colorimetrica dei fosfati si deve eseguire al di fuori dei limiti di acilità sopra ricordati e cioè ad acidità inferiori a 0,04 oppure superiori a 1,5 N di acido solforico e ciò per evitare che alla formazione del colore prenda parte anche l'eccesso di reattivo molibdico, non trasformato in fosfomolibdato.

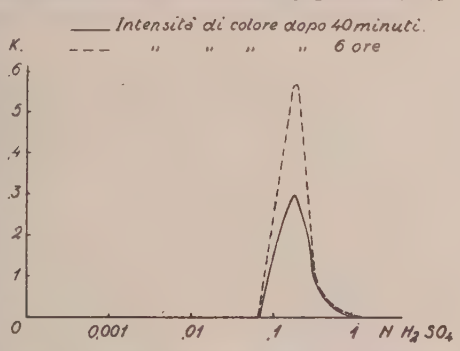


Fig. N. 1. Riduzione dell'acido molibdico con idrochinone in assenza di fosfati (senza aggiunta di solfito di sodio).

Restava ora da studiare l'andamento della riduzione dell'acido molibdico *in presenza di fosfati*. I risultati ottenuti nelle esperienze istituite a tale scopo e nelle quali furono usate sempre le stesse quantità di fosfati (mg. 0,04 di P), sono raccolti nella fig. N. 2, da cui risulta:

che nessum sviluppo di colore si osserva a partire da un ambiente neutro fino a una acidità corrispondente a una soluzione circa 0,002 N di acido solforico. Ciò è dovuto alla insufficente formazione del complesso fosfomolibdico in queste condizioni di acidità;

che il massimo dell'intensità di colore e quindi della sensibilità della reazione per una determinata quantità di fosfati si ha in soluzioni di acido solforico da 0,01 a 0,1 N circa; con un ulteriore aumento dell'acidità diminuisce l'intensità di colore fino a scomparire quando si sono raggiunte acidità superiori a 1,5 N. *La riduzione del complesso fosfomolibdico avviene dunque già a una acidità alla quale non può ancora partecipare l'acido molibdico libero.*

---

[1] L'esistenza di varie forme di acido molibdico è stata dimostrata anche recentemente da *Britton* e *German* (22).

[2] La composizione dell'azzurro di molibdeno non è conosciuta con certezza, ma si avvicina molto alla formola $Mo_2O_5 \cdot MoO_3 \cdot 6\,H_2O$.

Nel diagramma N. 2 era da aspettarsi che nella zona di acidità dove anche l'acido molibdico è riducibile (vedi fig. N. 1), l'intensità di colore dovesse essere la risultante della somma di quella corrispondente alla riduzione dell'acido fosfomolibdico, più quella corrispondente alla parziale riduzione dell'eccesso di reattivo molibdico presente. Si dovrebbe avere un diagramma del tipo della fig. N. 3.

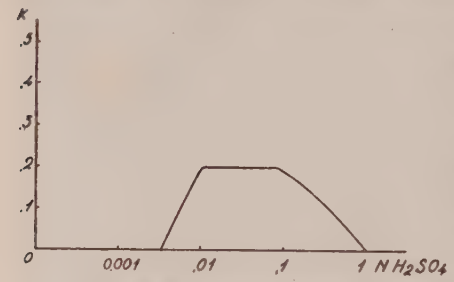


Fig. N. 2. Riduzione dell'acido molibdico con idrochinone in presenza di 40 γ di fosforo (sotto forma di KH_2PO_4).

A questa mancata sovrapposizione delle due riduzioni si potrebbe dare, in via ipotetica, la seguente spiegazione, alla quale non mancano alcuni fondamenti. Abbiamo già detto che l'acido molibdico si trova sotto forme diverse, non tutte riducibili dall'idrochinone, ed in equilibrio fra loro.[1] Ora se ammettiamo che l'acido fosforico nella formazione del complesso fosfomolibdico reagisca anzitutto con la forma riducibile dell'acido molibdico è evidente che l'idrochinone successivamente aggiunto non potrà agire che sulla rimanente parte dell'acido molibdico.

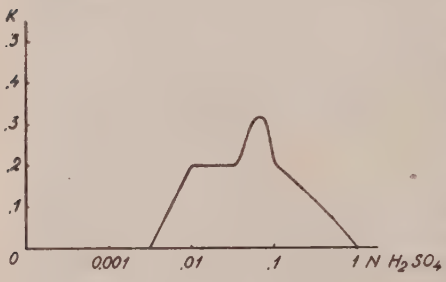


Fig. N. 3.

Da quanto abbiamo esposto si potrebbe in un primo momento pensare, che in presenza di fosfati la zona di acidità utilizzabile per il dosamento colorimetrico di questo si estenda da quella di soluzioni 0,01 a quella di soluzioni 0,1 N di acido solforico, comprendendo quindi anche quella zona nella quale avviene la riduzione del solo acido molibdico per opera dell'idrochinone. Dobbiamo però osservare che non è prudente operare nella zona nella quale l'acido molibdico è riducibile già da solo, per le seguenti ragioni:

[1] Un appoggio a questa asserzione si ha dalla fig. N. 1, nella quale si osserva che l'aggiunta di idrochinone a una soluzione di acido molibdico nella zona di riducibilità di questo, dà luogo dopo 40 m. già a una notevole riduzione, non completa poichè questa cresce, per quanto lentamente, nei tempi successivi. Evidentemente la riduzione promossa dall'idrochinone ha rotto l'equilibrio tra la forma riducibile e quella non riducibile, equilibrio che tende lentamente a riformarsi. Col ricomparire di nuove quantità di acido molibdico riducibile, data la presenza di idrochinone, si ha ulteriore formazione di azzurro di molibdeno.

1. In questa zona si ha sviluppo di colore anche in assenza di fosfati (vedi fig. N. 1).

2. In questa zona la presenza di fosfati non riesce sempre a impedire la riduzione dell'acido molibdico in eccesso. Si tratta di una zona in cui l'andamento della reazione risente maggiormente di fattori non sempre dominabili (impurezze, concentrazioni, ecc.). Non è infatti infrequente il caso in cui si ottiene una curva del tipo N. 4, nella quale la sopraelevazione secondaria rende manifesta la partecipazione dell'acido molibdico alla riduzione.

Nello studio della formazione dell'azzurro di molibdeno restava a prendere in considerazione un altro fatto, per la spiegazione del quale non è stato fatto finora alcun tentativo.

Sappiamo che l'azzurro di molibdeno è formato da ossidi di molibdeno inferiori a quello esavalente. Nella loro formazione durante la riduzione dell'acido fosfomolibdico, si libera acido fosforico. Ora ci si può chiedere perchè l'acido che si libera nella formazione dell'azzurro di molibdeno non reagisca con l'eccesso, sempre presente, di molibdato per ridare il complesso fosfomolibdico, il quale a sua volta dovrebbe venire nuovamente ridotto, e così di seguito fino a esaurimento dell'acido molibdico o dell'idrochinone.

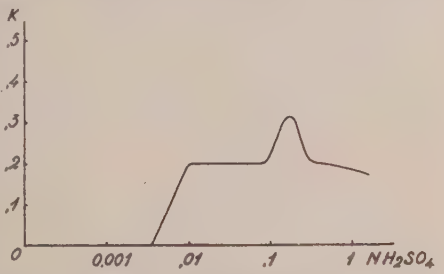


Fig. N. 4. Riduzione dell'acido molibdico con idrochinone e solfito di sodio in presenza di 40 γ di fosforo (sotto forma di KH_2PO_4).

Questo comportamento si può, in via ipotetica, spiegare pensando a un processo di esterificazione tra idrochinone e acido fosforico all'atto in cui questo si libera dal complesso, cosicchè esso verrebbe ad essere bloccato e non potrebbe più rientrare in ciclo.

Contro questa ipotesi però sta il fatto che la formazione degli esteri fosforici noti dell'idrochinone si compie a temperature piuttosto elevate, in presenza di anidride fosforica, o di forti concentrazioni di acido fosforico, condizioni queste assai lontane da quelle che si verificano nel caso della microdeterminazione colorimetrica dei fosfati.

Non resta quindi che pensare ad una azione generica di ostacolo, di natura per ora non precisabile, esercitata dalla presenza dell'idrochinone sulla formazione del fosfomolibdato.

Tanto la prima ipotesi quanto questa seconda interpretazione si accordano con la constatazione che l'aggiunta dei reattivi è assoggettata a una certa obbligatorietà cronologica.

Sta il fatto che per ottenere la formazione dell'azzurro di molibdeno

è necessario che alla soluzione di fosfati l'idrochinone sia aggiunto *dopo* il reattivo molibdico. Se viene aggiunto prima, la colorazione non si ottiene.

Abbiamo già detto che per evitare che il colore della soluzione di azzurro di molibdeno sia alterato dal colore bruno del chinone formatosi per ossidazione dell'idrochinone, basta aggiungere alla soluzione, dopo sviluppato il colore, del solfito o del bisolfito di sodio, che ripristinano l'idrochinone dal chinone.

Abbiamo pure detto che quando si scelga un filtro opportuno (S. 72 del fotometro di *Pulfrich*), l'aggiunta del solfito non è necessaria, perchè il colore bruno del chinone non incide sui valori della lettura al fotometro.

L'aggiunta di solfito o bisolfito di sodio si rende invece necessaria quando per mantenere in soluzione il fosfomolibdato formatosi, se abbondante, deva usarsi una soluzione di acido solforico alquanto più concentrata di quella compatibile coi limiti optimum per la formazione dell'azzurro di molibdeno.

In questi casi dopo aver ottenuta la colorazione si aggiunge il solfito in modo da riportare l'acidità della soluzione ai valori voluti. Si evita così quella zona di acidità alla quale si avrebbe anche la riduzione dell'acido molibdico non combinato con l'acido fosforico.[1]

Le concentrazioni dei vari reattivi usati, sopratutto del solfito di sodio, devono essere tali da ottenere un p_H finale oscillante fra 2,5 e 2,9 (determinato con l'elettrodo ad antimonio), a cui la stabilità del colore è massima. Per il procedimento pratico sarà detto in seguito.

Anche in questo caso particolare l'aggiunta del solfito si fa dopo la formazione del colore dovuta alla riduzione del fosfomolibdato, la quale, come abbiamo detto, è praticamente completa dopo dieci minuti dall'aggiunta dell'idrochinone.

---

[1] L'effetto neutralizzante prodotto dal solfito di sodio si spiega ricordando che si tratta di un sale formato da una base forte e da un acido debole, e come tale in soluzione presenta reazione alcalina in seguito a idrolisi. Inoltre quando il solfito viene a contatto con l'acido solforico, che è un acido forte, si stabiliscono i seguenti equilibri:

$$Na_2SO_3 + H_2SO_4 \rightleftarrows NaHSO_3 + NaHSO_4, \quad (1)$$

$$NaHSO_3 + H_2SO_4 \rightleftarrows NaHSO_4 + H_2SO_3. \quad (2)$$

Ricordando che l'acido solforoso si decompone facilmente secondo la reazione:

$$H_2SO_3 \rightleftarrows H_2O + SO_2 \quad (3)$$

e che l'anidride solforosa può liberarsi facilmente, si comprende come l'equilibrio si sposti verso destra, cioè nel senso della neutralizzazione dell'acido solforico presente.

Nel caso in cui si usi il bisolfito di sodio hanno luogo solo le reazioni (2) o (3).

In questi primi dieci minuti, anche se l'acidità della soluzione è tale da consentire la riduzione dell'acido molibdico libero, questa praticamente avviene così lentamente da non farsi sentire sui valori colorimetrici. Ben inteso il solfito o il bisolfito devono essere aggiunti in un tempo non superiore ai dieci minuti.

In ogni modo per evitare complicazioni quando ci si accorge che il materiale in esame contiene abbondante acido fosforico, ciò che esigerebbe una maggiore acidità della soluzione, sarà più opportuno usare una aliquota. Le quantità più opportune non devono superare i mg. 0,1 di P per 25 c. c. di soluzione finale.

Colorimetria dell'azzurro di molibdeno.

La reazione colorimetrica eseguita nelle condizioni fin qui discusse conduce adunque sempre dopo circa dieci minuti a intensità di colorazione stabili nel tempo. Non occorre perdere parole per dimostrare che tutte le altre condizioni di metodo, che non conducono a questa stabilità, sono incompatibili coi fondamenti stessi della colorimetria. Da molti AA. si è girato questo inconveniente facendo la lettura sempre dopo lo stesso tempo dalla avvenuta reazione, in modo da ottenere valori confrontabili in senso relativo.

Ciò sarebbe esatto se come variabili indipendente nel determinare l'intensità del colore fungesse solo il tempo, ma, come abbiamo già visto, qualora ci si scosti dalle condizioni optimum, entrano in gioco altri coefficienti, e particolarmente la reazione della soluzione, che hanno grande influenza sulla intensità e sulla velocità con la quale il colore si sviluppa.

Premesso questo, restava da vedere se, avendo attuate le condizioni optimum sopradescritte, il dosaggio dell'intensità di colore dell'azzurro di molibdeno segua la legge di *Beer*, ossia nel caso concreto del dosamento dei fosfati, se l'intensità di questo colore sia proporzionale ai fosfati presenti. Se tale proporzionalità fosse stata dimostrata, sarebbe stata evitata la necessità di costruire curve empiriche di riferimento, che sono sempre una complicazione del metodo.

La fig. N. 5 dimostra che in realtà la legge di *Beer* è seguita. Questa grafica fu dedotta dai valori sperimentali raccolti nella tavola N. 1.

La dimostrazione della validità della legge di *Beer* per l'azzurro di molibdeno è stata resa possibile mediante l'uso del fotometro di *Pulfrich*, col quale è possibile eliminare la soluzione di confronto. Se si fosse stati obbligati a usare la soluzione di confronto, sarebbero stati vani i diversi tentativi per stabilire le condizioni necessarie ad ottenere una intensità di colorazione stabile e dimostrare dopo quanto tempo tale costanza è raggiunta.

Tavola N. 1.

mg. di fosforo[1]	Reattivo molibdico c. c.	Soluzione di idrochinone al 2% c. c.	Intervallo in minuti	Soluzione di solfito di Na al 10% c. c.	Diluizione finale c. c.	Coefficiente di estinzione trovato (*K*)
0,01	1	1	10	2	25	0,061
0,02	1	1	10	2	25	0,119
0,03	1	1	10	2	25	0,181
0,04	2	2	10	3	25	0,237
0,05	2	2	10	3	25	0,292
0,06	2	2	10	3	25	0,347
0,07	2	2	10	3	25	0,398
0,08	2	2	10	3	25	0,456
0,09	2	2	10	3	25	0,509
0,10	2	2	10	3	25	0,569

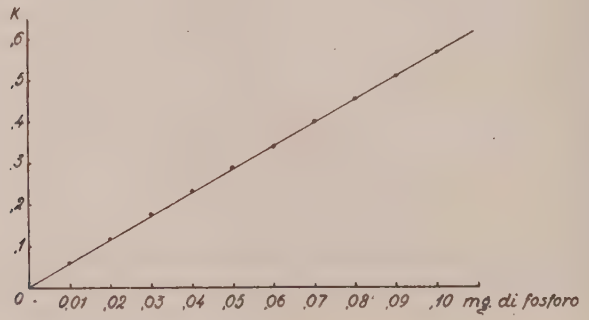


Fig. N. 5.

Infatti mediante la colorimetria secondo il metodo *Dubosque*, fatta cioè per confronto, non sarebbe stato possibile il rilievo delle eventuali variazioni di intensità di colore col tempo, in quanto tali variazioni si sarebbero contemporaneamente effettuate anche nella coluzione di confronto senza poterle rilevare.

Sensibilità del metodo.

Una volta attuate le condizioni per il dosaggio dell'acido fosforico che conducono a una colorazione stabile e di intensità proporzionale alla quantità di questo presente, mi sono preoccupato di vedere quale sia il limite di sensibilità del metodo. Nel caso di piccolissime quantità di fosfati si possono dosare 10 γ di fosforo, pari a 22,9 γ di anidride fosforica, senza ridurre il volume dei reagenti (complessivamente 25 c. c. di soluzione

[1] Sotto forma di fosfato alcalino sciolto inizialmente in circa 12 c. c. di acido solforico N/30.

colorata). Se si riduce opportunamente il detto volume a 10 c. c., la sensibilità limite si eleva a 4—5 γ di fosforo.

Estensione del metodo alla determinazione del magnesio e dello zinco. Un metodo colorimetrico esatto di dosaggio dell'acido fosforico può trovare applicazione anche nel dosaggio del magnesio e dello zinco.

Come è noto tali elementi possono venir isolati come sali ben definiti dell'acido fosforico, e precisamente come fosfato ammonico magnesiaco e come fosfato di zinco e ammonio. Questi composti sono solubili in ambiente acido per cui in definitiva si viene ad ottenere una soluzione contenente ioni fosforici in quantità corrispondente a quella degli ioni magnesio o zinco.

La separazione del magnesio e dello zinco allo stato di fosfati insolubili, trattandosi sopratutto di piccolissime quantità, richiede particolari cautele, per le quali rimando ai trattati di analitica. In linea generale si può dire che prima di procedere alla precipitazione dei loro sali è necessario eliminare tutti quegli ioni che possono precipitare come fosfati nelle condizioni di precipitazione del fosfato ammonico. magnesiaco e zinchico. Tra questi il più frequente è il calcio, che va eliminato sotto forma di ossalato di calcio.

A questo scopo il residuo dell'incenerimento acido del materiale in esame, costituito da soli composti inorganici, viene sciolto in 5—10 c. c. di acido cloridrico N/10 circa e trasportato in tubo da centrifuga. Si tiene a b. m. per due minuti e poi si aggiungono 2 c. c. di soluzione satura di ossalato d'ammonio e quindi ammoniaca, in presenza di rosso di metile, fino a avere una tinta leggermente rossa (p_H 5—6): si lasci a b. m. per dieci minuti e si centrifughi.

Il liquido sovrastante o parte aliquota, viene decantato in un'altra provetta da centrifuga, nella quale si procede alla precipitazione del fosfato ammonico magnesiaco. A questo scopo si aggiungono alcune gocce di acido cloridrico e poi un eccesso di fosfato ammonico; si riscalda a b. m. bollente e quindi si precipita con un eccesso di ammoniaca al 10%. Si lascia riposare a temperatura ambiente per 10—12 ore, successivamente si centrifuga e si lava con ammoniaca al 2%.

Il residuo che deve essere costituito da solo fosfato ammonico magnesiaco viene sciolto in 10—15 c. c. di acido solforico N/30 e si procede alla reazione colorimetrica col procedimento sopradescritto per l'acido fosforico.

Per lo zinco il procedimento è analogo. Anche per questo elemento è necessario eliminare il calcio.

Anche lo zinco rimane nel liquido di decantazione, nel quale si dosa dopo averlo separato allo stato di fosfato ammonico zinchico. Bisogna però che questo fosfato venga separato, senza che contemporaneamente avvenga la precipitazione del fosfato ammonico magnesiaco.

A questo scopo si tratta il liquido di decantazione con ammoniaca in quantità tale che l'ambiente rimanga debolmente acido (per il magnesio, come si è già detto, la precipitazione si fa in ambiente alcalino) e si riscalda a b. m. Alla soluzione calda si aggiunge una quantità di fosfato ammonico tale che sia all'incirca dieci volte lo zinco presente. Il fosfato zinco ammonico che si separa da prima è amorfo, ma poi si trasforma rapidamente in un precipitato finemente cristallino e tanto più rapidamente quanto maggiore è la quantità di sali ammonici presenti. Dopo mezz'ora di riscaldamento si toglie dal b. m., si lascia a se per qualche tempo, si centrifuga e si lava con acqua fino a eliminazione completa dei fosfati solubili. In fine il residuo, che deve essere costituito da solo fosfato di zinco e ammonio, viene sciolto in acido solforico N/30 e si procede alla reazione colorimetrica analogamente a quanto sopra.

Nel caso dello zinco è necessario che la reazione del liquido nel quale si opera la precipitazione sia compresa entro ben determinati limiti di p_H (5—6), perchè già in ambiente neutro inizia la precipitazione del fosfato ammonico magnesiaco.

Nel materiale biologico lo zinco è quasi sempre contenuto in tracce e quindi è evidente che la precipitazione in queste condizioni può essere incompleta e l'insieme delle manipolazioni portare a perdite tali da rappresentare notevoli percentuali. Credo quindi che per quanto riguarda lo zinco sia meglio attenersi ad altri metodi di dosaggio e particolarmente a quello polarografico.

Conclusione.

Da quanto fu esposto si deve concludere che la determinazione colorimetrica del fosforo attraverso la formazione dell'azzurro di molibdeno, se ha il vantaggio di essere molto sensibile così da permettere la valutazione di pochi γ, implica però particolari cautele di metodo, in quanto non si può derogare da certe condizioni sperimentali, al di fuori delle quali i risultati sono sicuramente errati.

Evidentemente il metodo può essere modificato nelle sue particolarità, ma queste modificazioni non devono essere tali da riuscire incompatibili col meccanismo delle reazioni chimiche e delle condizione chimico-fisiche che sono a fondamento della colorimetria dell'acido fosforico attraverso la formazione dell'azzurro di molibdeno, e che abbiamo discusse.

Devo ricordare che dal confronto da me compiuto sulla praticità ed esattezza dei diversi metodi per il dosaggio dell'acido fosforico colorimetricamente, quello di *Briggs* (24) si avvicina più di ogni altro alle condizioni optimum da me suggerite senza però raggiungerle, in quanto con questo metodo si opera in ambiente troppo acido.

Il metodo colorimetrico di dosaggio dell'acido fosforico può essere esteso anche al dosaggio del magnesio e dello zinco.

Procedimento pratico.

Credo opportuno indicare il seguente procedimento pratico, che vale per la maggior parte dei casi che si offrono al biologo nel dosaggio del fosforo nei diversi materiali, nel quale è tenuto conto di tutte le considerazioni fin qui svolte.

Reattivi necessari.

1. Soluzione di acido solforico N/30 circa: 1 c. c. di acido solforico conc., d. 1,84, si diluisce a un litro.

2. Reattivo molibdico: g. 2,5 di molibdato d'ammonio cristallizzato si scioglie in 100 c. c. di acido solforico N/1.[1]

3. Soluzione di idrochinone: g. 2 di idrochinone si sciolgono in 100 c. c. di acqua distillata; alla soluzione così ottenuta si addiziona 0,2 c. c. di acido solforico conc. Si conservi al riparo della luce e in bottiglie piene. Dopo alcuni giorni la soluzione di regola si colora in bruno e va rinnovata.

4. Soluzione di solfito di sodio: g. 10 di solfito di sodio anidro si portano a 100 c. c. con acqua distillata.

5. Soluzione titolata di fosfati: si pesano esattamente g. 0,4389 di KH_2PO_4 e si diluiscono a 1000 c. c.; 1 c. c. di questa soluzione contiene mg. 0,1 di fosforo, pari a mg. 0,316 di acido fosforico e a mg. 0,229 di anidride fosforica.

Nel procedimento pratico della determinazione colorimetrica dell'acido fosforico si devono distinguere due tempi:

A. Trattamento del materiale in esame in modo da ottenere una soluzione sufficientemente pura di fosfati.

Tale trattamento preliminare del materiale biologico varia a seconda della natura del materiale stesso in quanto è ovvio che la determinazione colorimetrica presuppone l'assenza di sostanze che possono interferire nelle reazioni che a suo tempo abbiamo descritte. La maggior parte di tali sostanze sono composti organici, i quali ostacolano la separazione dei fosfati e, per i materiali di origine vegetale, anche l'acido silicico, il quale pure come l'acido fosforico, da la reazione colorata dell'azzurro di molibdeno.

Le sostanze organiche devono essere eliminate preventivamente. Ciò si ottiene mediante una energica ossidazione. Ottimi risultati io ho ottenuto mediante incenerimento per via umida usando una miscela nitrico

[1] Soluzioni più concentrate di molibdato d'ammonio sono da evitarsi, sia perchè non sempre danno buoni risultati, sia perchè non si conservano. Così la soluzione satura di molibdato d'ammonio in acido solforico N lasciata a se, già dopo qualche giorno si colora in azzurro.

Briggs evitava questi inconvenienti facendo la soluzione in acido solforico 5 N, ma in questo caso si incorre in un eccesso di acidità.

perclorica, la quale oltre essere un energico ossidante, ha il vantaggio di non lasciar residuo, poichè durante la reazione da origine a prodotti volatili, che abbandonano il sistema.

L'acido silicico in materiale di origine animale, data la sua presenza in tracce, non turba; di esso bisogna invece tener conto quando si operi su materiale di origine vegetale.

La sostanza (es. 2 c. c. di sangue, 2 c. c. di latte, 0,2 c. c. di urina ecc.) viene introdotta nel palloncino di vetro Pyrex dell'apparecchio della fig. N. 6 e poi si aggiunge la miscela nitrico perclorica (HNO_3, d. 1,39 pari a 40° Bé, parti 71; $HClO_4$, d. 1,61 parti 29), in quantità sicuramente sufficiente per ossidare tutta la sostanza organica (per lo più 15 c. c.). Si riscalda aumentando gradatamente la fiamma e poi si fa bollire fino a tirare a secco (15—20 minuti circa). Per eliminare eventuali residui di ossidante si aggiunga poco acido cloridrico e si riporti a secco, ripetendo, ove occorra, quest'ultimo trattamento.

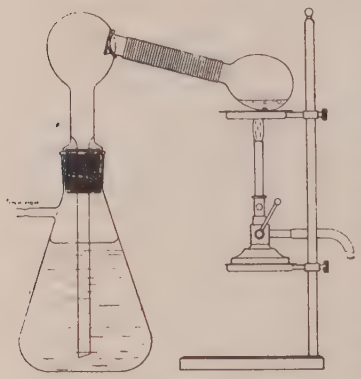


Fig. N. 6.

Nel palloncino è consigliabile la presenza di un frammento di vetro per evitare sussulti.

B. Misura colorimetrica.

Il residuo costituito da soli composti inorganici viene trattato con 4—5 c. c. di acido solforico N/30 e si travasa in palloncino tarato da 25 c. c., ripetendo l'operazione altre due volte in modo da ricuperarlo quantitativamente. Se è presente silice, è necessario separarla mediante filtrazione per carta senza peli, precedentemente inumidita con acido solforico N/30.

Qualora la quantità di acido fosforico presente superi i mg. 0,1 di fosforo, si usi un palloncino da 50 c. c. e complessivamente 30—35 c. c. di acido solforico N/30, suddiviso in tre porzioni per i diversi lavaggi; oltre i mg. 0,3 si impieghino palloncini da 100 c. c. e 65—70 c. c. di acido. Desiderando invece usare sempre la stessa diluizione, si operi su parte aliquota del materiale.

Ottenuta una soluzione limpida dei fosfati, si aggiungono, agitando leggermente, 2 c. c. di reattivo molibdico e poi 2 c. c. di idrochinone. Si aspetta 10 minuti, trascorsi i quali si addizionano 3 c. c. di solfito di sodio al 10% e poi subito si diluisce a volume (25—50—100 c. c. a seconda dei casi), usando sempre in queste operazioni acido solforico N/30 (p_H 2,5—2,9).

A questo punto la soluzione è pronta per la lettura colorimetrica.[1] Il contenuto in acido fosforico si calcola desumendolo da un diagramma preventivamente costruito impiegando quantità note e progressivamente crescenti di acido fosforico o fosfati alcalini.

È sempre consigliabile costruirsi da se la curva di riferimento. In questo modo si avrà l'occasione di controllare la messa a punto dell'apparecchio, la purezza dei reattivi e l'andamento della reazione colorimetrica. Inoltre in tal modo saranno pure in gran parte eliminati gli errori dovuti alla valutazione soggettiva dell'intensità di colore.

Per la lettura al fotometro di *Pulfrich* si usi il filtro S 72.

È chiaro che le indicazioni da me date, conducendo a soluzioni colorate stabili, permettono anche di usare un comune colorimetro di *Dubosque*. In questo caso è necessario disporre di una soluzione di confronto, contenente quantità note di acido fosforico e all'incirca dell'ordine di grandezza di quella presente nella soluzione in esame. La soluzione di confronto deve essere trattata in modo eguale a quella della soluzione nella quale si dosa l'acido fosforico.

Il procedimento sopra descritto si può considerare di applicazione generale. In qualche caso pur dovendo operare su materiale ricco di sostanze organiche non è assolutamente necessario l'incenerimento.

Quando per esempio si vogliano dosare solo i fosfati inorganici nel sangue, plasma o siero, basta deproteinizzare con acido tricloroacetico. Le scarse combinazioni organiche che in questi casi rimangono in soluzione sono di natura tale da non disturbare praticamente la formazione dell'azzurro di molibdeno.

Evidentemente in questo modo si dosano solo i fosfati solubili (il cosidetto fosforo acido solubile), mentre per la determinazione del fosforo totale sarà sempre necessario far precedere una completa distruzione della sostanza organica del sangue, onde liberare il fosforo dalle sue combinazioni organiche.

Dalla differenza fra il fosforo totale e quello solubile si ottiene il cosidetto fosforo organico, cioè quello presente in combinazione organica precipitabile.

Praticamente sul sangue si procede nel seguente modo: 2 c. c. di sangue (plasma o siero) si trattano con 8 c. c. di acido tricloroacetico al 7% (2/5 N circa). Si agita e si filtra per filtro asciutto. Si prelevano 5 c. c. di filtrato e poi si aggiungono 10—12 c. c. di acqua in modo da riportarci alla acidità optmum, che in questo caso è impartita dall'acido tricloroacetico (la forza di questo acido è dell'ordine di grandezza di quella dell'aci-

[1] Come abbiamo già ricordato il dosaggio colorimetrico si può fare anche senza l'aggiunta del solfito. Questo tuttavia rende più brillante il colore e leggermente più sensibile la reazione.

do solforico). Successivamente si aggiungono 2 c. c. di reattivo molibdico e poi 2 c. c. di idrochinone e si aspetta 10 minuti. Dopo aggiunta di 3 c. c. di solfito di sodio al 10% si porta a volume con acqua.

Il fostoro trovato corrisponde a 1 c. c. del liquido di partenza.

Quando si disponga di piccole quantità di materiale si può partire anche da un c. c. di di sangue; in tal caso per riportarsi nelle stesse condizioni di prima si diluisce con 1 c. c. di acqua distillata e poi si procede come sopra.

Riassunto.

Fatta una rapida rassegna dei principali metodi di dosaggio dell'acido fosforico in materiale biologico, si conclude che fra tutti il metodo colorimetrico all'azzurro di molibdeno è quello che da maggior affidamento.

Si trattano i fondamenti teorici su cui si basa tale metodo e si discutono le condizioni chimiche e chimico-fisiche necessarie par arrivare a determinazioni esatte. Si contempla pure l'estensione del metodo al dosaggio indiretto del magnesio. Infine tenendo conto delle condizioni optimum stabilite, si propone il procedimento pratico di determinazione sia dell'acido fosforico sia del magnesio in materiale biologico.

Zusammenfassung.

Nach einer kurzen Aufzählung der hauptsächlichsten Methoden zur Bestimmung der Phosphorsäure in biologischem Material wird der Schluß gezogen, daß unter allen Methoden die kolorimetrische zur Bestimmung als Molybdänblau die vertrauenswürdigste ist.

Es werden die theoretischen Grundlagen behandelt, auf denen diese Methode beruht, und die chemischen und physikochemischen Bedingungen diskutiert, deren Erfüllung zur Erreichung genauer Bestimmungen notwendig ist. Es wird auch die Ausdehnung der Methode auf die indirekte Bestimmung des Magnesiums in Betracht gezogen. Schließlich wird unter Zugrundelegung der als optimal festgestellten Bedingungen die praktische Ausführungsform sowohl für die Bestimmung der Phosphorsäure wie des Magnesiums in biologischem Material vorgeschlagen.

Summary.

The principal methods for the determination of phosphoric acid in biological material are briefly enumerated, and the conclusion is reached that the colorimetric determination as molybdenum blue is the most reliable.

The theoretical basis underlying the method is discussed, and the chemical and physico-chemical conditions enumerated which are necessary for the attainment of accurate results; the extension of the method to the indirect determination of magnesium is also considered. In conclusion, a practical procedure is proposed, based on the most favourable theoretical conditions, for the determination of both phosphoric acid and magnesium in biological material.

Résumé.

Après une énumération brève des méthodes principales pour la détermination de l'acide phosphorique dans une matière biologique, on a conclu,

que la méthode colorimétrique pour la détermination du bleu de molybdène est la méthode la plus digne de confiance pour la détermination de l'acide phosphorique.

On discute les bases théoriques de cette méthode et les conditions chimiques et physico-chimiques dont l'accomplissement est nécessaire pour atteindre des dosages précises. Aussi on met en ligne de compte l'application de cette méthode sur le dosage indirect du magnésium. Enfin on communique le mode d'exécution pratique pour la détermination de l'acide phosphorique et du magnésium dans une matière biologique, prenant pour base les conditions optimales, trouvées au cours du travail.

Bibbliografia.

1. *F. Pregl (H. Roth)*, Die quantitative organische Mikroanalyse. 4. Aufl., pag. 157. Berlin 1935.
2. *R. Kuhn*, Ztschr. physiol. Chem. **129**, 64 (1923).
3. *F. Holtz*, Klin. Wchschr. **4**, 1685 (1925).
4. *G. Embden*, Ztschr. physiol. Chem. **113**, 138 (1921).
5. *K. Myrbäck*, Ztschr. physiol. Chem. **148**, 197 (1925).
6. *S. Posternack*, Bull. Soc. chim. France [4], **27**, 507, 564 (1920).
7. *Z. Dienes*, Biochem. Ztschr. **95**, 131 (1919); Journ. biol. Chemistry **61**, 77 (1924).
8. *P. Iversen*, Journ. biol. Chemistry **25**, 104 (1920).
9. *R. Kuhn*, l. c. (2).
10. *Smith-Brown*, Journ. Lab. clin. Med. **9**, 203 (1923).
11. *M. Soerensen*, Compt. rend. Lab. Carlsberg **15**, N° 10, 1—6, Kopenhagen.
12. *C. P. Steward* e *W. Archibald*, Biochemical Journ. **19**, 484 (1925).
13. *K. Samson*, Biochem. Ztschr. **164**, 288 (1925).
14. *M. M. Macheboeuf*, Bull. Soc. Chim. biol. **8**, 464 (1926).
15. *J. H. Gaddum*, Biochemical Journ. **20**, 1204 (1926).
16. *K. Myrbäck*, l. c. (5).
17. *W. R. Bloor*, Journ. biol. Chemistry **36**, 49 (1918).
18. *H. Kleinmann*, Biochem. Ztschr. **99**, 19 (1919).
19. *F. Juliusberger*, Biochem. Ztschr. **177**, 140 (1926).
20. *A. E. Taylor* e *C. W. Miller*, Journ. biol. Chemistry **18**, 215 (1914).
21. *R. D. Bel* e *E. A. Doisy*, Journ. biol. Chemistry **44**, 55 (1920).
22. *H. T. S. Britton* e *W. L. German*, Journ. chem. Soc. London **1930**, 2158.
23. *Fr. Ephraim*, Anorganische Chemie, 4. Aufl., pag. 413. Dresden u. Leipzig 1929.
24. *A. P. Briggs*, Journ. biol. Chemistry **59**, 255 (1924).

A New Colorimetric Method for the Determination of Starch Applied to Soluble Starch, Natural Starches, and Flour

By

Jamshedji Jijibhoy Chinoy, Bombay, India

(Eingelangt am 11. August 1938.)

It has been shown in previous work[1] that methods involving the specific starch-iodine reaction are most suited for the accurate determination of starch. Gravimetric methods involving the precipitation of starch iodide are already described,[1, 2, 3] but a need was felt for a suitable colorimetric method for the determination of minute quantities of starch. The starch iodide reaction has been used for the colorimetric determination of oxygen,[4] iodine,[5] and starch. As to the last, *Maskell*[6] has developed a rapid comparative method for field work, and *Cassel*[7] described a procedure wherein the starch in plant material is gelatinized by refluxing for 45 minutes with salicylic acid and water, followed by the addition of 0,1 *N* NaOH. The coloration is developed in portions of the unknown solution and the standard solution by treatment with 0,1 *N* HCl and a solution of I_2 in KI in *Nessler* tubes. *Pucher* and *Vickery*[8] have recently evolved a spectrophotometric method for the determination of starch in plant material which appears to be a lengthy procedure. The use of 21% HCl for the extraction of starch is open to criticism because of the very great instability of starch in such a solution. As regards the use of a concentrated solution of calcium chloride for the extraction of starch, these authors themselves have pointed out difficulties, and there is no doubt that grave errors are introduced into the estimations owing to the starch

---

[1] *J. J. Chinoy,* Analyst **63**, 876 (1938).

[2] *J. J. Chinoy, F. W. Edwards,* and *H. R. Nanji,* Analyst **59**, 673 (1934).

[3] *J. J. Chinoy, F. W. Edwards,* and *H. R. Nanji,* ibid. **59**, 677 (1934).

[4] *B. G. T. Hand,* Journ. Chem. Soc. London **123**, 2573 (1923).

[5] *H. Q. Woodard,* Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **6**, 331 (1934).

[6] *E. J. Maskell,* Ann. Bot. **41**, 327 (1927).

[7] *C. Cassel,* Ztschr. Spiritusind. **35**, 591 (1912); Chem. Ztrbl. **1913 I**, 64.

[8] *G. W. Pucher* and *H. B. Vickery,* Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed. **8**, 92 (1936).

undergoing rapid destruction in calcium chloride solution. The method of starch extraction involving the use of 0,7% KOH, which is already described elsewhere (see footnote 2, p. 132), overcomes these difficulties. Starch in the presence of alkali remains stable for quite a long period.

For the colorimetric determination of starch it is necessary to obtain the starch iodide complex in perfectly colloidal form. In the case of soluble starch the difficulty of obtaining a completely colloidal form of starch iodide does not arise. In the case of insoluble starches, however, such as rice, wheat, maize, etc., the difficulty of bringing the starch iodide compound into a completely colloidal state is a real one. As alkali gelatinization is absolutely essential to bring these starches into solution and as the alkali is subsequently neutralized, the resulting potassium acetate does not allow the starch iodide compound to remain in the colloidal state; in fact a further addition of the same electrolyte completely coagulates the starch iodide complex. Taking these facts into consideration it appeared necessary to find a suitable method of adding iodine in the use of which all of the starch iodide complex remained in a colloidal form. It has been noted that when iodine is added to the starch solution (say of rice) the starch iodide complex thus formed remains partly in colloidal state and is partly precipitated. This partial precipitation of the starch iodide complex is probably due to the too rapid formation of the compound when iodine is added to the solution. This appears to be the case because if iodine is produced gradually in the starch solution an altogether different result is obtained. In this case all of the starch iodide complex is obtained in a colloidal form, imparting to the whole solution a clear blue color whose intensity is proportional to the concentration of starch in the solution. This reaction is brought about by adding an adequate quantity of KI to a starch solution (weakly acid) and generating iodine by the addition of chlorine water or dilute hydrogen peroxide. *Bach* and *Chodat*[1] have shown that the oxidizing action of dilute hydrogen peroxide in a weakly acid solution of potassium iodide is slow. Chlorine water produced the same result as hydrogen peroxide but the starch iodide color was not stable. On the other hand the reaction produced by dilute H_2O_2 was very stable.

Part I: Colorimetric Determination of Soluble Starch

Pure dry soluble starch is dissolved in 100 ml. of distilled water by heating for 15 minutes on a water bath. It is cooled to room temperature and made up to volume in a measuring flask. A number of aliquots are pipetted out in 20 mm. × 200 mm. Pyrex tubes (calibrated to measure 10, 25, and 50 ml.). Two to three ml. of 0,1 *N* KI are added and 1 to 2 ml. of hydrogen peroxide (10 volumes; 3%) are gradually introduced. The

[1] *A. Bach* and *A. Chodat*, Ber. Dtsch. chem. Ges. **37**, 1342 (1904).

liquids in the tubes are brought to the mark.[1] As the reaction takes place between potassium iodide and hydrogen peroxide, iodine is liberated and the blue color of the starch iodide complex is developed. After thoroughly shaking them, the solutions in the tubes are allowed to stand for an hour.

For the full development of the starch iodide color the following conditions must be satisfied: the amount of H_2O_2 added must be so adjusted that its reaction with KI releases free iodine which is slightly in excess of that required for the quantity of starch in the solution. It is necessary to allow the excess of iodine to remain in contact with the starch iodide complex for an hour in order to reach optimum conditions of iodine adsorption.

After allowing the solutions to stand for an hour, about 5 ml. of chloroform are introduced into each tube and they are shaken gently by turning them from end to end. It is advisable to shake the tubes gently so as not to form an emulsion of the chloroform with the solution. Turning them from end to end ensures efficient shaking and removal of iodine from the solution. As soon as the color (violet) becomes sufficiently dark a pipette is introduced. In order to prevent the solution from entering the pipette, its upper end must be closed by the forefinger till the lower end reaches the chloroform layer. The chloroform is removed and a fresh quantity is added. Three or four such changes of chloroform are adequate to remove all the iodine from the solution. This is easily noticed by the last lot of chloroform remaining colorless. The colors of the solutions are matched in a colorimeter and the colorimetric ratios determined. The colorimeter used in the present work was Klett's "Bio-Model". Results using soluble starch are presented in Table I.

Table I

1 ml. of starch solution contains 2,3283 mg. of starch. 2 ml. of 0,1 *N* KI and 2 ml. of H_2O_2 were added to each aliquot

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations $L : R$	
L	R[2]	Found	Calculated
0,25	0,50	0,508	0,500
0,50	0,75	0,648	0,667
0,75	1,00	0,765	0,750
1,00	1,25	0,797	0,800
1,25	1,50	0,847	0,833
1,50	1,75	0,905	0,857
1,75	2,00	0,858	0,875
2,00	2,00	0,969	1,000

[1] Care should be taken in adding distilled water to the solutions. The tubes must not be shaken until after the liquid is brought to the mark as it is otherwise difficult to read the meniscus due to slight bubbling.

[2] L represents left cup of the colorimeter and R represents the right cup.

In the first two columns (Table I) the volumes of starch solutions taken for estimation are given and also the pairs of solutions which are compared in the colorimeter are shown. The ratios of the starch concentrations are obtained by dividing the reading for the right hand cup by the reading for the left hand cup. Each colorimetric ratio is an average figure derived from six readings taken at different points over the whole range of the scale. It is evident that the colorimetric ratios (column 3) must closely correspond with the calculated ratios of starch content (column 4) if the development of starch iodide color bears a linear relation to the starch content of the solutions. This is shown to be the case by the above figures. The proportionality holds good within 2 to 3% in all cases.

As alkali has to be used in those cases in which starch is difficult to extract, e. g., in cereals and other plant material, it was thought well to examine the effect of alkali gelatinization on the development of color. In this case comparisons were made of solutions prepared from a stock solution (No. I) of soluble starch in water, containing 0,9967 g. in 500 ml., with solutions made from a stock solution (No. II) of soluble starch which was prepared as follows: 1,0065 g. of dry soluble starch was dissolved in 100 ml. of 0,7% KOH by warming for 10 minutes on a water bath. On cooling, the solution was made up to 500 ml. and then filtered. Equal volumes of both these solutions were taken in the tubes. The portions of No. II were neutralized by the addition of the requisite quantity of 5% acetic acid. Two ml. of 0,1 *N* KI and 2 ml. of 3% H_2O_2 were then added to all and the liquids brought to mark. Colors were matched in the colorimeter after the removal of excess of iodine as already stated. The results are presented in Table II.

Table II

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations I : II	
No. I	No. II	Found	Calculated
0,50	0,50	0,970	0,991
0,75	0,75	0,973	0,991
1,00	1,00	0,977	0,991
1,50	1,50	0,971	0,991
2,00	2,00	0,973	0,991
0,50	0,75	0,653	0,660
1,00	1,50	0,659	0,661
2,00	1,75	1,132	1,133
1,50	1,00	1,493	1,486
2,00	2,00	0,963	0,991

The results clearly show that KOH gelatinization and subsequent formation of potassium acetate have almost no effect upon the development of the starch iodide color. The colorimetric ratios of the two solutions agree very closely with the calculated ratios.

Part II: Natural Starches and Flour

The colorimetric method which has been developed for soluble starch will become useful only when it is applied to the determination of starches from various plants and also to the determination of starch in the plant material itself. The importance of the determination of starch in commercial flours to a flour-mill chemist has already been stressed by *Jacobs* and *Rask*.[1] In a previous communication (s. footnote 3, p. 132) a rapid and accurate gravimetric method for the determination of starch in commercial flours and similar products has been described. It is attempted here to standardize the conditions for the application of the colorimetric method to pure natural starches as well as to some commercial flours. The different varieties of natural starches, viz., potato, wheat, maize, and rice were selected so as to represent a fair range of sizes of starch grains. Potato starch has a grain measuring 25–35 μ, wheat starch has a medium grain measuring 20–35 μ, maize and rice starches are small grained varieties measuring 12–18 μ, and 6 μ respectively.

For the reasons already stated elsewhere, 0,7% KOH solution was used throughout the course of this investigation for the gelatinization of starch. Besides the determinations of the four starches described above, analyses were carried out on two common varieties of flour as well as on potato meal. These were used after freeing them from soluble matter by repeated extractions with 80% alcohol, drying in the oven at 100° C. and then grinding in a *Maercker* mill so as to pass through a 100-mesh sieve. The procedures for the alkali gelatinization and for the development of color were those outlined above.

Pure Rice Starch

As already pointed out this starch cannot be properly gelatinized by water. Alkali gelatinization is quite satisfactory. The results obtained in the case of microscopically tested, pure rice starch are presented in Table III.

Table III

Rice Starch: 2,0130 mg. in 1 ml. of the solution (KOH gelatinization). 2 ml. of 0,1 *N* KI and 2 ml. of H_2O_2 were added to each solution

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations *L* : *R*	
L	*R*	Found	Calculated
1,00	1,25	0,825	0,800
1,25	1,50	0,829	0,833
1,50	1,75	0,883	0,857
1,75	2,00	0,896	0,875
2,00	2,25	0,881	0,889
2,25	2,50	0,909	0,900

[1] *B. R. Jacobs* and *O. S. Rask*, Ind. Engin. Chem. **12**, 899 (1920).

The first two columns give the aliquots of the starch solution in pairs taken for the development of color. In the third and fourth columns the colorimetric ratios for each pair of solutions are indicated. It will be observed that the measured ratios agree very closely with the calculated ones.

Stability of the Starch Iodide Color

It was observed that the color of starch iodide, once developed, remained unchanged for more than a week. In order to determine whether there was any change in the intensity of the color, the solutions listed in Table III were again matched after allowing them to stand for four days. The results are given in Table IV. The observations clearly demonstrate the stability of the starch iodide color under the conditions laid down in the present method.

Table IV

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations $L : R$	
L	R	Found	Calculated
1,00	1,25	0,791	0,800
1,25	1,50	0,832	0,833
1,50	1,75	0,886	0,857
1,50	2,00	0,763	0,750
2,00	2,25	0,919	0,889

Pure Maize Starch

Maize starch was similarly treated and aliquots were taken for the development of the starch iodide color. The details of the experiment and the results are presented in Table V.

Table V

Maize Starch: 1,8356 mg. in 1 ml. of the KOH solution. 2 ml. of 0,1 N KI and 3 ml. of H_2O_2 were added to all solutions.

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations $L : R$	
L	R	Found	Calculated
1,00	1,25	0,808	0,800
1,25	1,50	0,838	0,833
1,25	1,75	0,721	0,714
1,75	2,00	0,876	0,875
2,00	2,25	0,903	0,889
2,00	2,50	0,822	0,800
2,50	2,75	0,873	0,909
2,75	3,00	0,894	0,917

On comparing the measured with the calculated ratios it becomes evident that the agreement is within 1% in the case of the first five ratios. In the last three cases differences exceed 1%, but do not exceed 3% in two cases and in the remaining case the difference is slightly more than 4%.

Pure Wheat Starch

In this experiment the effect of varying quantities of H_2O_2 on the development of the starch iodide color was tried. Wheat starch was gelatinized by 0,7% KOH and 1 ml. aliquots were taken out. After adding 2 ml. of 0,1 *N* KI, varying quantities (from 1 to 6 ml.) of 3% H_2O_2 were added. The results are given in Table VI.

Table VI

ml. H_2O_2 added		Ratio of Starch Concentrations $L : R$	
L	*R*	Found	Calculated
1	2	1,002	1,00
2	3	0,996	1,00
3	4	1,014	1,00
4	5	1,008	1,00
5	6	0,996	1,00
1	6	0,986	1,00
2	6	1,001	1,00

The results clearly demonstrate that even when the quantity of H_2O_2 is increased to 6 ml. there is no adverse effect on the development of the starch iodide color. Incidentally, these results also prove the suitability of the method for pure wheat starch.

Pure Potato Starch

Of all the natural starches studied, potato starch was found to be the most readily soluble in distilled water. Alkali gelatinization was carried out, however, in order to retain the conditions of the standard procedure.

Table VII

Potato Starch: 3,0347 mg. starch in 1 ml. KOH solution. 2 ml. of 0,1 *N* KI and 3 ml. H_2O_2 were added to all aliquots

ml. of Starch Solution taken		Ratio of Starch Concentrations $L : R$	
L	*R*	Found	Calculated
0,50	0,75	0,645	0,667
0,75	1,00	0,765	0,750
1,00	1,25	0,796	0,800
1,25	1,50	0,831	0,833
1,50	1,75	0,851	0,857
1,75	2,00	0,883	0,875

The proportionality of the starch iodide color to the concentration of starch present is again clearly borne out by the results shown in Table VII.

From the foregoing it would appear that experiments have been carried out on a sufficiently wide range of starches and the experiments clearly demonstrate the fact that a close quantitative relationship holds between the intensity of the starch iodide color and the concentration of starch present in the solution.

Starch in Plant Material, Potato Tubers

The colorimetric method was used for the determination of starch in potato tubers as well as in two varieties of commercial flours. Potato tubers *(Solanum tuberosum)* were chopped into small bits after removing the outer corky layer. The material was prepared for starch estimations by extraction with 80% alcohol and by drying and powdering as described on page 136.

A quantity of the dried potato powder (1,2107 g.) was heated on a water bath with 100 ml. of 0,7% KOH for about 40 minutes. The suspension was cooled and filtered through a fluted paper and the filtrate diluted to 500 ml. A standard starch solution was prepared by gelatinizing 0,9951 g. of pure dried rice starch with 0,7% alkali and diluting to 500 ml. A number of aliquots of the standard solution as well as the potato solution were taken out in tubes and, after neutralizing the alkali, the color was developed as before. The aliquots of the potato solution were matched with the standard solutions in the colorimeter and from their ratios, starch content as percentage of dry weight was determined in the following way:

$$S = \frac{100\,ALV}{gvR},$$

where, S represents starch content of the material as percent of dry weight, A = starch in the aliquot of the standard solution, V = total volume of the unknown solution (potato solution in this case), L = colorimetric reading of the standard solution, R = colorimetric reading of the unknown solution, v = the aliquot of the unknown solution taken for comparison, and g = plant material in grams used for preparing the unknown solution.

For comparison, two aliquots of the unknown solution (25 ml. each) were taken out and the starch iodide was precipitated (following the technique described elsewhere [see footnote 2, p. 132]), filtered through a tared alundum crucible, washed, dried, and weighed. The results are presented in Table VIII.

The volumes of the standard solution and the potato solution are designated L and R respectively in the first two columns. There is very

good agreement between the values obtained by the present method and by the starch iodide method.

Table VIII

1 ml. of the standard starch solution contains 1,9902 mg. of starch

ml. of Solution taken for Colorimetric Comparison		Starch Percent Dry Weight (Colorimetric Method)	Starch Percent Dry Weight (Gravimetric Method)
L	*R*		
2,00	4,00	83,3	82,5
2,00	4,00	80,8	81,8
2,50	5,00	83,1	—
2,50	5,00	81,9	—
3,00	6,00	80,8	—
3,00	6,00	83,0	—

Determination of Starch in Commercial Flours

Weighed samples of dry flour, previously extracted with 80% alcohol and dried in the oven at 100° C., were gelatinized with about 250 ml. of 0,7% KOH on a water bath at 90° C. for an hour; the solution was then cooled to room temperature and diluted to 500 ml. Starch was determined by the colorimetric method described in Part I as well as by the starch iodide method (see footnote 2 and 3, p. 132). The results are shown in Table IX.

Table IX

Flour	Starch Percent Dry Weight (Colorimetric Method)	Starch Percent Dry Weight (Gravimetric Method)
Rice Flour No. I	74,5	75,0
	74,6	75,8
	73,2	—
	74,8	—
Rice Flour No. II	81,2	80,9
	80,2	83,1
	80,3	—
	80,1	—
Rice Flour No. III ...	76,6	77,0
	77,1	78,7
	77,0	—
Wheat Flour No. I ...	72,6	71,9
	71,3	72,3
	72,0	—
Wheat Flour No. II ..	70,3	72,4
	71,6	70,2
	70,1	—

The results obtained by the two methods are strikingly in agreement with each other. Variations in the duplicates are of the order of 2 to 3%.

Statistical Examination of the Data

The data presented in the foregoing tables were examined statistically by applying *Fisher*'s "t" test[1] to the colorimetric ratios and the calculated ratios, and also to the results of starch content obtained by the two methods. Here the results of two such typical analyses will be presented. In the case of data in Table V the value of "t" was found to be – 0,0364. This is not significant even at the 5% point. In the case of starch values in Table VIII, the "t" (which is – 0,02912) is also utterly insignificant. It is therefore concluded that the variations which are observed in the experimental values are random or chance errors.

Discussion of the Results

All the results in the foregoing clearly demonstrate the fact that the colorimetric method lends itself for the determination of starch in various plant materials. Color development is not hindered by alkali gelatinization (Table II) and subsequent formation of potassium acetate by the neutralization of KOH. Results of Table VI leave no doubt as to the absence of any effect of H_2O_2 on the color development. Even an excess of this reagent is in no way detrimental to color development. It is however advisable to avoid too great an excess in order to minimize bubbling in the solution as this might interfere in the matching of colors. The stability of the starch iodide color is also clearly proved by the determinations given in Table IV.

The present method combines ease of manipulation with accuracy of determination. It is possible to estimate very small quantities of starch by the present method, even as little as 0,5 or 1,0 mg. (Table I) can be determined in duplicates within a 2 to 3% error. The method has already been applied to various plant materials and found to be very satisfactory. It is proposed to present the data in another publication.

Statistical computation lends conclusive support to the fact that the ratios obtained experimentally do not differ from the standard values in any systematic manner. The differences found are due to random errors.

Summary

1. A new, rapid and accurate colorimetric method for the determination of minute quantities of starch is described.

2. The procedure involves the well-known starch-iodine reaction.

3. Iodine is generated in a neutral or weakly acid solution by the addition of KI and H_2O_2 so as to bring the starch iodide into a completely

[1] *R. A. Fisher*, Statistical Methods for Research Workers. London 1934.

dispersed form. The excess of iodine is removed by chloroform and the colors are matched in a colorimeter.

4. The method has been tried in the case of soluble starch, pure natural starches, potato tubers, as well as rice and wheat flours and found to be very satisfactory.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine neue, rasch ausführbare und genaue kolorimetrische Methode für die Bestimmung sehr kleiner Stärkemengen beschrieben.

2. Das Verfahren beruht auf der wohl bekannten Jodstärkereaktion.

3. In neutraler oder schwach saurer Lösung wird durch Zugabe von Kaliumjodid und Wasserstoffperoxyd das Jod in Freiheit gesetzt, was zur Folge hat, daß sich die Jodstärkeverbindung in einer völlig dispersen Form bildet. Nach Entfernen des Jodüberschusses mit Hilfe von Chloroform werden die Färbungen der Probelösungen durch kolorimetrischen Vergleich gemessen.

4. Die Methode wurde an löslicher Stärke, reinen natürlichen Stärken, Kartoffelknollen sowie an Reis- und Weizenmehl erprobt und als sehr verläßlich befunden.

Résumé.

1° On décrit une nouvelle méthode colorimétrique rapide et précise, qui permet la détermination des plus petites quantités d'amidon.

2° Le procédé base sur la réaction de l'iode avec l'amidon bien connue.

3° L'iode est mis en liberté en solution neutre ou faiblement acide par addition de KJ et de H_2O_2 et on reçoit ainsi l'amidon iodé en état complètement dispersé. L'excès de l'iode est enlevé par chloroforme; puis on peut comparer les couleurs des solutions à l'aide d'un colorimètre.

4° La méthode a été appliquée à l'amidon soluble, à l'amidon pure native, aux tubercules des pommes de terres et à la farine de froment et à la farine de riz; la méthode a été trouvée bien satisfaisante.

From the Department of Agricultural Chemistry, Purdue University Agricultural Experiment Station, Lafayette, Indiana

An Improved Mercury Control for Capillary Burettes

By

D. L. Johnson and Ch. L. Shrewsbury

(Eingelangt am 15. August 1938.)

Various types of chambers have been used for controlling the mercury which is used to expell the titrating fluid in capillary burettes of the *Rehberg* type. *Rehberg*,[1] for his burette, used a steel screw sealed into the widened end of the glass tubing by means of picein or sealing wax. *Widmark* and *Örskov*[2] used a Swedish silver steel plunger passing through a steel tube which was sealed into the enlarged end of the burette by paragum rubber and picein and controlled by means of a micrometer screw. *Linderstrøm-Lang* and *Holter*[3] employed a glass chamber blown at the base of the burette with a metal plunger controlled by a fine screw. *Kirk*[4] has used a steel cylinder with a plunger working inside, that is made mercury tight by a wooden gasket fastened inside the metal jacket. This entire device is affixed to the burette by means of a glass tube attached with *de Khotinsky* cement. There is also available at this time from the Macalaster-Bicknell Company[5] a mercury control device consisting of a metal chamber made in two parts with a metal to metal ground joint and a plunger made mercury tight by means of a leather packing box. This is attached to the burette by means of a ground glass-ground metal joint.

In constructing a special capillary burette in this laboratory we first attempted to use a control of the type described by *Rehberg*. We found it impossible to obtain a seal with picein or sealing wax sufficiently tight to prevent the leakage of mercury and still allow turning of the controlling screw. With *Kirk*'s burette control we found there was a tendency for

---

[1] *P. B. Rehberg*, Biochemical Journ. **19**, 270 (1925).

[2] *E. M. P. Widmark* and *S. L. Örskov*, Biochem. Ztschr. **201**, 19 (1928).

[3] *K. Linderstrøm-Lang* and *H. Holter*, Ztschr. physiol. Chem. **201**, 9 (1931).

[4] *P. L. Kirk*, Mikrochemie **14**, 1 (1933).

[5] Macalaster-Bicknell Company, Washington and Moore Sts., Cambridge, Mass.

the mercury to creep past the wooden gasket when considerable pressure was exerted by the mercury. Once the mercury had escaped past this gasket it would no longer hold mercury at even a considerably lower pressure. The Macalaster-Bicknell apparatus, modified so that it was attached to the burette with picein, held a mercury column up to about 30 inches but with a higher column it developed a leak at the metal to metal joint.

To overcome these difficulties a new burette control was designed which holds a column of mercury at least four feet high without any leakage. From a mechanical viewpoint this new apparatus is superior to those previously described, for it uses leather packing boxes to make all the connections mercury tight. An increase in the pressure holding the leather packings around the burette and the plunger is obtained easily by merely tightening the packing-box nuts. Another advantage is that it is very easily removed from or attached to the burette.

Figure 1. Mercury Control for Capillary Burettes

Fig. 1 is a photograph of the assembled mercury control[1] while Fig. 2 is a scale drawing showing the construction. At *a* is shown the chamber holding the mercury. It has a bore very slightly larger than the plunger except for a length of one inch where it was made large enough to allow the insertion of the capillary glass tubing of the burette. At each end there is an enlargement of the bore to accommodate the leather packing. These ends are also threaded for the packing nuts. The plunger *b* is used to force the mercury into the burette. It is 5/32 of an inch (4 mm.) in diameter and is threaded with about 40 threads to the inch for one-half its length. Part *c* is the handle for the plunger. The base for holding the pieces of the apparatus in place is shown at *d*. It consists of a bar with two double wings attached which are used for screwing down the control so that it can be held in place. There are also two vertical wings one of which holds the chamber while the other, *e*, has the female screw which controls the forward motion of the plunger. The large packing nut *f* is used to exert pressure on the leather packing which seals the burette into the control, while *g* is the smaller nut which is used to make the plunger

[1] This apparatus was made by the Mechanical Engineering Department of Purdue University.

mercury tight. A nut *h* tightly holds the chamber to the base preventing it from rotating with the plunger and thereby checking the forward motion of the plunger. Leather packings are shown at *i*. The chamber *a* and the base *d* were made of cold rolled steel and were chromium plated, the former only on the outside where the mercury would not come in contact with the plating. The plunger *b* was made of steel also but was not plated. The articles *c*, *f*, *g*, and *h* were made of brass and were chromium plated.

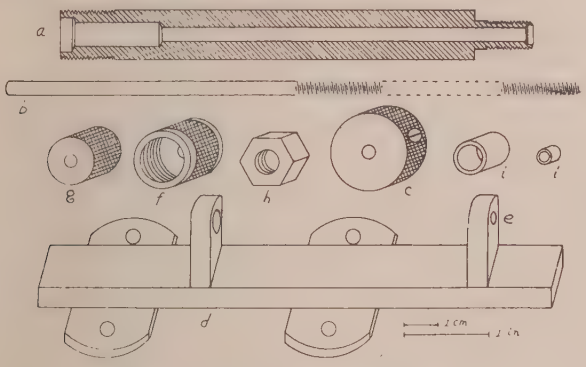


Figure 2. Parts of the Mercury Control

The apparatus is made so that there is a very definite control over the mercury and the setting of the meniscus is easily made as closely as it may be read in capillary tubing of 0,5 mm. bore. The volume of mercury which may be displaced varies with the length and diameter of the bore of the cylinder. With our burette control about 1 ml. may be expelled.

The control was tested by running up a column of mercury four feet in a piece of capillary tubing and allowing it to remain there for a week. At first there was a small leakage of mercury but after further tightening of the packing nuts even this slight leaking was prevented. It is probable that this control would hold a five foot column of mercury and even higher columns.

Summary

A mechanically superior mercury control for capillary burettes has been developed which holds a high column of mercury without leakage and still affords a minute control over the rise of the mercury in the capillary.

Zusammenfassung

Es wurde eine infolge ihrer mechanischen Bauart vorzügliche Kontrollvorrichtung für Kapillarbüretten entwickelt, die eine hohe Quecksilbersäule

ohne Quecksilberverlust (durch „Leckwerden") festhält und eine äußerst genaue Beobachtung der Höhe der Quecksilbersäule in der Kapillarröhre gestattet.

Résumé.

On a développé un contrôle, méchaniquement supérieur, à mercure pour des burettes capillaires, lequel tient une haute colonne de mercure sans fuite et qui donne un contrôle très précis de l'élévation du mercure dans le tube capillaire.

From the Sir William Dunn School of Pathology, Oxford

An easily made Microburette

By

N. G. Heatley

(Eingelangt am 8. September 1938.)

The burette described below was originally made for use with the *Linderstrøm-Lang* and *Holter*[1] microvolumetric technique. It has given satisfactory results over a period of three years, and though no increased accuracy or strikingly original features are claimed for it as against other microburettes of the same type,[2,3,4] it is thought that the ease and cheapness with which it can be constructed may justify a brief description.

The burette itself is held vertically in a groove in a wooden stand by means of two spiral springs S (see diagram). The column of fluid in the burette is balanced by a negative pressure controlled by the difference in height of two small reservoirs containing mercury. One of these, A, is fixed, and the other, E, can be raised or lowered by a pair of endless cords passing round a spindle which is controlled by the knurled knob K. (The reservoir is fixed to a carriage which slides on a length of curtain rail L. The cords pass over pulleys at the top of L and are kept taut by two spiral springs T.)

As described by *Linderstrøm-Lang* and *Holter*[3] and *K. Schwarz*,[4] the titrating fluid can be controlled with great nicety by making use of the fact that owing to surface tension, when under a moderate pressure, fluid will only leave the burette when the tip of the latter is immersed in the fluid being titrated. Some means is therefore required by which the titrating tip can be easily removed from and replaced in the fluid in the titration vessel. This is accomplished in the burette of *Linderstrøm-Lang* and *Holter*[3] by lowering and raising the titrating table by

[1] *K. Linderstrøm-Lang* and *H. Holter*, Compt. rend. Lab. Carlsberg **19**, No. 4 (1931).

[2] *E. Schilow*, Ztschr. analyt. Chem. **70**, 23 (1927).

[3] *K. Linderstrøm-Lang* and *H. Holter*, Compt. rend. Lab. Carlsberg **19**, No. 14 (1933).

[4] *K. Schwarz*, Mikrochemie **18**, 1 (1933).

means of a rack and pinion: *Schwarz*[1] attains the same end by moving the burette instead of the table. In the instrument being described, the titration table A is fixed to two slides B and B' which move freely over a vertical length of curtain rail, C.[2] A third slide, D, can be fixed at any position on C. A horizontal projection of D is connected by a

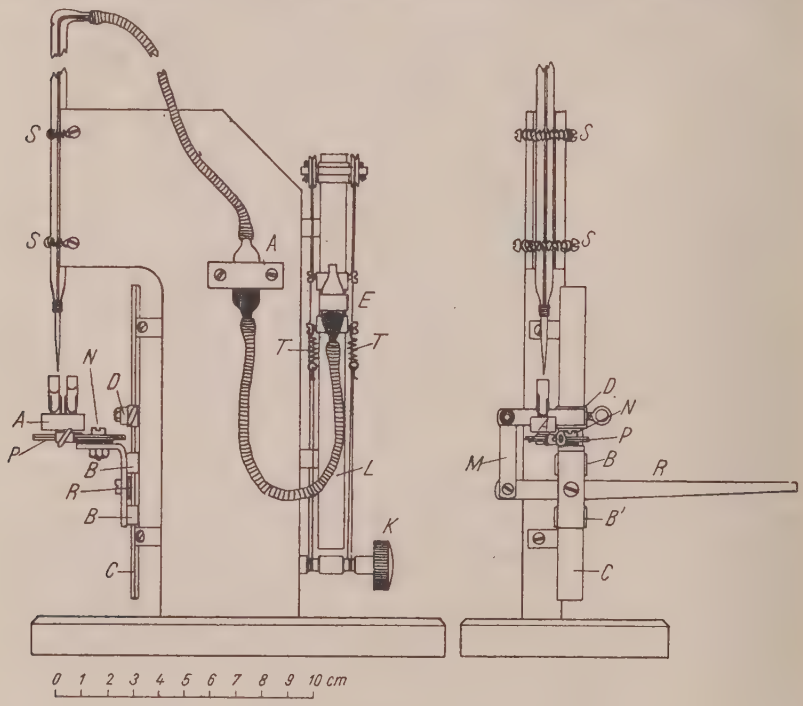


Figure 1

loose link M with the end of a lever R, and the titrating table is loosely pivoted to a point on the lever about one fifth of its length from the link M. Thus the height of the titrating table may be adjusted coarsely by altering the position of D, and finely (as in a titration) by moving the lever R. The titrating table itself, A, is screwed to a slide which can be fixed in any position on a short horizontal length of curtain rail, P. The latter pivots about the bolt N so that considerable adjustment, in a horizontal plane, is obtainable.

[1] *K. Schwarz,* see footnote 4, p. 147.

[2] The curtain rail and fittings which make the construction of this burette so simple are sold under the trade name of "VAB", and can be obtained from F. W. Woolworth & Co., Ltd.

For the sake of clearness, the side elevation in the diagram does not show the pressure regulating mechanism.

Summary

A type of micro-burette which can be easily and cheaply made is described.

Zusammenfassung.

Es wird eine leicht und billig herstellbare Mikrobürette beschrieben.

Résumé.

On décrit une sorte de micro-burette, qu'on peut fabriquer facilement et à bon marché.

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikal. Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem. Direktor: Prof. Dr. *P. A. Thiessen.*

Mikrobestimmung des Calciums in Serum und Serum-Ultrafiltraten.*

Von

K. Scholtis.

(Eingelangt am 10. September 1938.)

Im Zuge einer Arbeit über die Verteilung des Calciums im Serum hat sich die Notwendigkeit ergeben, eine exakte und doch schnelle Mikro-Calciumbestimmung zu finden, die vor allem für Reihenuntersuchungen brauchbar sein mußte. Nach den zahlreichen Angaben der Literatur, besonders nach den Untersuchungen von *C. Trincao* und *N. Sacadura Corte-Real*[1] über die Fehlerbreite verschiedener Calcium-Bestimmungsmethoden schien die Methode von *E. P. Clark* und *J. B. Collip*[2] die zunächst geeignete zu sein, die nach folgender Vorschrift ausgeführt wird:

2 ccm klares Serum, 2 ccm dest. Wasser und 1 ccm 4%ige Ammonoxalatlösung werden in einem Zentrifugenglas von 15 ccm Inhalt sorgfältig gemischt und nach 30 Minuten zentrifugiert, der Abguß entfernt und das Rohr während 5 Minuten in umgekehrter Stellung auf Filtrierpapier ruhend eingeklemmt, damit die letzten Reste von Flüssigkeit abgesaugt werden. Man wäscht 1mal mit 3 ccm 0,5%igem Ammoniak und trocknet wie vorher, löst dann den Niederschlag in 2 ccm 1 n-Schwefelsäure, wobei man 1 Minute lang in siedendes Wasser eintaucht, und titriert die Oxalsäure mit $^1/_{100}$ n-Permanganatlösung aus einer Mikrobürette, wobei sich das Glas in einem Wasserbad von 70° befindet.

Allein die Methode des Abheberns der Flüssigkeit über dem Calciumoxalat erschien nicht einwandfrei, da oft an der Flüssigkeitsoberfläche kleine Partikelchen von Calciumoxalat hängenbleiben, die dann leicht mitabgesaugt werden können. Auch die zur Bestimmung notwendige

* Diese Arbeit wurde noch von der früheren Schriftleitung der „Mikrochemie" redigiert.

[1] *C. Trincao* und *N. Sacadura Corte-Real*, Compt. rend. Soc. Biologie **107**, 1165 (1931).

[2] *E. P. Clark* und *J. B. Collip*, Journ. biol. Chemistry **63**, 461 (1925).

Menge von 2 ccm Serum war zu groß, da gerade bei Serumultrafiltraten oft nur geringe Mengen zur Verfügung stehen.

Es wurde nun folgende Methode entwickelt, bei der nur 0,5 ccm Untersuchungsmaterial zur Bestimmung benötigt werden und zur Abtrennung des Niederschlages ein Ton-Mikro-Filterstäbchen Verwendung findet.

I. Prinzip der Methode.

Etwa 0,5 ccm Untersuchungsmaterial werden in einem kleinen Bechergläschen mit 0,3 ccm 4%iger Ammonoxalatlösung und 0,2 ccm ammoniakhaltigem Wasser versetzt, gut durchmischt und bis zum Absitzen des Niederschlages (mindestens eine halbe Stunde) stehengelassen. Dann wird die überstehende Flüssigkeit mittels eines Mikrofilterstäbchens B_2 (Berliner Porzellanmanufaktur) abgesaugt und der Niederschlag mit 0,5%igem Ammoniak (mit Calciumoxalat gesättigt) drei- bis viermal gut ausgewaschen (je 0,5 ccm, absaugen wie bei der Fällung). Man löst nun den Niederschlag (einschließlich des auf der Filterplatte befindlichen Rückstandes) in 0,5 ccm 1 n-Schwefelsäure, klemmt das Bechergläschen in eine drehbare, auf 70° erwärmte elektrische Heizplatte und titriert mit $^1/_{100}$ n-Kaliumpermanganatlösung bis zum gerade erkennbaren Umschlag. Das Verfahren wurde an Testlösungen reiner Calciumsalze, ferner an Testlösungen, die Fremdsalze und Eiweißsubstanz enthielten, geprüft.

II. Apparative Hilfsmittel.

Pipette bzw. Bürette: Mit der Herabsetzung der Ausgangsmenge mußte natürlich eine Verfeinerung der Meßgeräte (Pipette, Bürette) Hand in Hand gehen. Die normalen Auslaufpipetten für 0,5 ccm haben sich als unbrauchbar erwiesen, da infolge des Nachlaufes keine Konstanz erreicht wurde. Auswaschpipetten waren gerade für Reihenuntersuchungen nicht brauchbar, da nach jedem Versuch die Pipette erst mit Alkohol-Äther getrocknet werden mußte. Als sehr brauchbar erwies sich nun folgende Anordnung (Abb. 1):

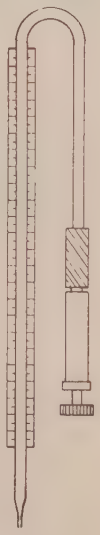


Abb. 1. Pipette bzw. Bürette.

Eine ausgesuchte starkwandige Kapillare (Thermometerkapillare) von etwa 1,4 mm innerem Durchmesser und 80 bis 90 cm Länge wird U-förmig gebogen, so daß der Abstand zwischen beiden Schenkeln ungefähr 6 cm beträgt. Die Spitze der Pipette wird so ausgezogen, daß keine Verengung des Lumens auftritt und das Glas nicht zu dünn wird. Dadurch bleibt der Tropfen in der in Abb. 2 gezeichneten Form hängen

und kann wieder vollständig in die Kapillare zurückgesaugt werden. Sollte der austretende Tropfen über die Spitze der Pipette kriechen, so ist es notwendig, diese ganz leicht zu fetten. An den anderen Schenkel der Kapillare wird mittels Vakuumschlauches eine kleine Luftpumpe dicht angeschlossen[1] (Abb. 3). Der Stempel enthält eine Lederdichtung, der Fassungsraum beträgt etwa 3 ccm. Durch Drehen der mit feinem Gewinde versehenen Schraube wird es ermöglicht, die Maßlösung in kleinsten Anteilen zu entnehmen. An der Kapillare wird eine in Millimeter unterteilte Glasskala mit Korkstückchen so befestigt, daß sie sich nicht verschieben kann. Mit Hilfe einer Lupe gelingt es leicht, noch 0,1 mm abzulesen. Man kann also mit dieser Kapillare noch ungefähr 0,0002 ccm abmessen.

Abb. 2. Spitze der Pipette bzw. Bürette.

Die Kapillare wird mit Wasser von 20° durch Auswägen genauestens geeicht. Wegen des Nachlaufes muß eine bestimmte Zeit (3 Minuten) vom Anfang der Entnahme bis zur Ablesung genauestens eingehalten werden. Es ist aber nicht gleichgültig, ob man bei gleicher Ablesungszeit einmal die Flüssigkeit rasch auslaufen läßt und dann die Nachlaufszeit einhält oder ob man in derselben Zeit die Flüssigkeit langsam, tropfenweise, entnimmt. Der Fehler beträgt bis zu 1%. Das größere Volumen wird nach der zweiten Art erhalten. Man muß also darauf sowohl bei der Eichung als auch bei der Messung achten und immer in derselben Weise arbeiten.

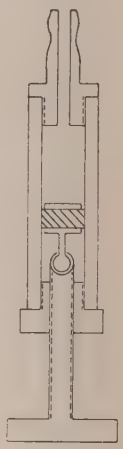


Abb. 3. Luftpumpe.

Das Arbeiten mit der Pipette gestaltet sich nun folgendermaßen:

Zum Füllen wird die Spitze der Pipette in die Vorratslösung eingetaucht, die Flüssigkeit mittels der Pumpe hochgesaugt und die Spitze von außen mit Filtrierpapier abgetrocknet. Nun wird mittels der Pumpe der noch anhaftende kleine Tropfen soweit in die Kapillare zurückgesaugt, daß der Meniskus mit der Spitze eine Linie bildet. Jetzt liest man mit Hilfe der Lupe auf Zehntelmillimeter ab und notiert den Stand. Die Entnahme der Probe erfolgt nun derart, daß man einfach eine bestimmte Anzahl von Tropfen ausfließen läßt (für 0,5 ccm 8 bis 9 Tropfen) und den nicht abgetropften Rest wieder in die Kapillare zurücksaugt. Nach 3 Minuten liest man wieder ab und aus der Differenz der beiden Ablesungen und dem durch die Eichung festgestellten Umrechnungsfaktor ergibt sich in einfacher Weise das Volumen.

[1] *G. Jander* und *J. Harms*, Angew. Chem. **48**, 267 (1935), verwendeten eine ähnliche Vorrichtung, bei der die Maßlösung durch einen im Lumen der Kapillare befindlichen Stempel aus V2A-Stahl herausgedrückt werden konnte.

Die Bürette ist genau so konstruiert wie die Pipette. Das Fehlen eines gefetteten Hahnes ist gerade bei Verwendung von Kaliumpermanganat besonders angenehm, da die Verunreinigung der Maßlösung und die dadurch bedingte Änderung des Titers weitgehendst vermieden wird. Auch die Reinigung und Entfettung der Bürette ist sehr schnell und einwandfrei durchführbar.

Die drehbare Heizplatte: Als Fällungs- und Titriergefäß dient ein kleines Bechergläschen von 20 mm Durchmesser und 30 mm Höhe. Da das Tonfilterstäbchen während der Titration im Bechergläschen verbleibt, ist es wegen Raumschwierigkeiten nicht möglich, einen kleinen mechanischen Rührer zu verwenden. Es wurde daher das Gefäß mit der Lösung in Rotation versetzt und durch das sich nicht mitdrehende Filterstäbchen eine rasche und gute Durchmischung erreicht. Da die für die Oxydation der Oxalsäure mit Kaliumpermanganat günstigste Temperatur bei etwa 70° liegt, wurde eine drehbare elektrische Heizplatte (Abb. 4) konstruiert. An der Heizplatte, die einen Durchmesser von 8 cm hat, sind drei kleine Messingfedern montiert, in die das Titriergefäß eingeklemmt wird. Die Heizplatte wird direkt an der Welle eines kleinen Rührmotors (durch geeigneten Widerstand auf kleine Umlaufgeschwindigkeit gebracht) befestigt. Als Heizstromquelle dient ein Transformator (primär 220 Volt, sekundär 20 Volt). Der Heizstrom wird durch Schleifkontakte zugeführt. Mittels eines Widerstandes wird die Temperatur der Heizplatte so reguliert, daß etwa 70° erreicht werden. Der Elektromotor mit der Heizplatte ist um eine senkrechte Achse schwenkbar montiert, so daß die Füllung der Bürette leicht vorgenommen werden kann.

Abb. 4. Drehbare elektrische Heizplatte.

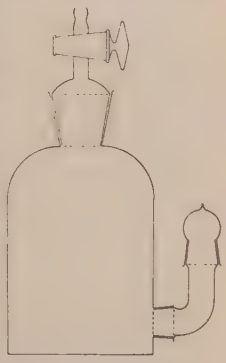


Abb. 5. Vorratsflasche für Maßlösungen.

III. Reagenzien.

Für sämtliche Lösungen wurde zweifach destilliertes Wasser verwendet. Als Vorratsgefäß für die Maßlösungen hat sich eine besondere Flasche gut bewährt (Abb. 5). Der Schliff am unteren Tubus der Flasche wird vorteilhafterweise mit *Krönig*schem

Glaskitt[1] gekittet. Durch den seitlichen Ansatz wird die Entnahme der Maßlösung zur Füllung der Bürette und Pipette sehr erleichtert und auch die Verwendung der letzten Reste ermöglicht. Bei der Herstellung des mit Calciumoxalat gesättigten 0,5%igen Ammoniaks muß einige Sorgfalt verwendet werden, da das Calciumoxalat sehr leicht kolloidal in Lösung geht. Es wurde daher zum Ammoniak hinreichend Calciumoxalat zugegeben, gut durchgeschüttelt und über Nacht verschlossen stehengelassen. Dann wurde die Lösung durch ein mittleres Ultrafeinfilter filtriert. Auf die Staubfreiheit der Lösungen muß besonders geachtet werden, da oft durch Staub ein Mehrverbrauch an Kaliumpermanganat verursacht werden kann. Es wurden daher nur Spritzflaschen mit Wattefilter im Blasrohr und Glasfritte im Steigrohr verwendet (Abb. 6).

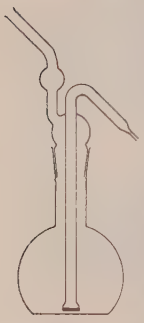


Abb. 6. Spritzflasche.

IV. Ausführung der Bestimmung.

Die Pipette wird mit der Untersuchungslösung gefüllt, die Spitze mit Filtrierpapier abgetrocknet, genau eingestellt und die Ablesung notiert. Dann werden 8 bis 9 Tropfen in das kleine Bechergläschen zufließen gelassen, der nicht abgetropfte Rest wieder zurückgesaugt und nach 3 Minuten, gerechnet vom Beginn der Entnahme, die untere Ablesung notiert. Bei Reihenuntersuchungen kann die Pipette sogleich wieder gefüllt werden. Zu der Untersuchungslösung gibt man nun 0,3 ccm 4%ige Ammonoxalatlösung, schüttelt gut um und spritzt aus einer kleinen Spritzflasche mit ammoniakhaltigem Wasser von oben her den Rand des Bechergläschens ab. Nun läßt man bis zum Absitzen des Niederschlages (mindestens eine halbe Stunde) zugedeckt stehen. Dann wird mit dem zuvor mit Chromschwefelsäure gereinigten Tonfilterstäbchen die überstehende Flüssigkeit abgesaugt. Man wäscht mit 0,5%igem Ammoniak, der mit Calciumoxalat gesättigt ist, den Niederschlag aus und spritzt die Wände des Bechergläschens gründlich ab (drei- bis viermal mit je 0,5 ccm). Man läßt das Filterstäbchen im Becherglas, fügt 0,5 ccm 1 n-Schwefelsäure zu und klemmt das Bechergläschen in die schon erwärmte Heizplatte. Das Tonfilterstäbchen wird mittels eines Gummischlauches so befestigt, daß es sich einerseits nicht mitdrehen kann (Rührwirkung), anderseits aber doch so beweglich bleibt, daß damit kleine Anteile Maßlösung von der Bürettenspitze abgenommen werden können. Nach etwa 3 Minuten ist die gewünschte Temperatur von 70° erreicht und man beginnt mit der Titration. Man gibt den nächsten Tropfen immer erst nach vollständiger Entfärbung der Lösung

[1] *F. Pregl (H. Roth)*, Die quantitative organische Mikroanalyse. 4. Aufl.. S. 43. Berlin 1935.

zu. Gegen Ende der Titration werden nicht mehr ganze Tropfen zugesetzt, sondern man nimmt mit dem Filterstäbchen nur kleine Anteile von der Spitze der Bürette ab. So lassen sich beliebig kleine Anteile entnehmen. Man titriert bis zum gerade erkennbaren Umschlag, saugt den nicht abgenommenen Tropfen in die Bürette zurück und liest 4 Minuten nach Beginn der Titration ab.

V. Beleg- und Kontrollbestimmungen.

Zur Prüfung der Methode wurden Testlösungen von bekanntem Calciumgehalt hergestellt. Zur Einwaage wurde $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ verwendet, das durch Fällung einer Calciumchloridlösung mit Ammonoxalat in der Hitze dargestellt worden war. Die genauest eingewogene Menge wurde in einem Platintiegel verascht und mit der nötigen Menge verdünnter Salzsäure aufgenommen.

Tabelle I. Analysen einer Ca-Testlösung ohne Elektrolytzusätze.

Testlösung ccm	$KMnO_4$ ccm	Ca	
		gefunden mg%	eingewogen mg%
0,50451	0,28795	11,44	11,35
0,51337	0,29089	11,36	11,35
0,51838	0,29544	11,42	11,35

Mittel: **11,41** mg%

Fehler des Mittelwertes: **0,5%**

Durchschnittliche Abweichung der Einzelmessungen vom Mittelwert: **0,3%**.

Da sich die Methode bei reinen Calciumsalzlösungen als einwandfrei erwies, wurde ihre Brauchbarkeit in Anwesenheit von Magnesium- und anderen Salzen überprüft.

Tabelle II. Analysen einer Ca-Testlösung mit Elektrolytzusätzen.

Zusätze: NaCl 0,8%, KCl 0,05%, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,05%.

Zahl der Bestimmungen	Tiefster Wert mg%	Höchster Wert mg%	Mittel mg%	Eingewogen mg%
11	10,95	11,37	11,13	11,01

Fehler des Mittelwertes: **1,1%**.

Durchschnittliche Abweichung der Einzelmessungen vom Mittelwert: **1,3%**.

Es zeigte sich, daß Spuren von Magnesiumoxalat mitausfallen und so einen höheren Calciumgehalt vortäuschen. Dem konnte aber, wie vorstehende Analysen zeigen, durch gutes Auswaschen des Niederschlages weitgehendst abgeholfen werden.

Um die Calciumsalz-Testlösung noch weiter dem Serum oder dessen Ultrafiltraten anzugleichen, wurde ihr außer Elektrolyten noch ein Eiweißkörper zugesetzt. Als leicht zugänglicher Körper wurde β-Glutin (aus Gelatine hergestellt) gewählt, das zur Entfernung des größten Teiles des darin befindlichen Calciums zuvor dialysiert wurde. Aber selbst bei tagelanger Dialyse gegen Leitfähigkeitswasser war das Calcium nicht vollständig zu entfernen. Es mußte daher eine Kontrollbestimmung der Testlösung durch Veraschung im Platintiegel durchgeführt werden.

Tabelle III. Analysen einer Testlösung mit Zusatz von Elektrolyten und β-Glutin.

Zusätze: NaCl 0,8%, KCl 0,05%, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,05%, β-Glutin 0,8%.

Analysenergebnisse nach Veraschung im Platintiegel:

Testlösung ccm	$KMnO_4$ ccm	Ca mg%
0,50758	0,30389	12,00
0,49968	0,30459	12,21
0,50113	0,30409	12,16

Mittel: **12,12** mg%.

Analysenergebnisse bei direkter Ca-Bestimmung:

Testlösung ccm	$KMnO_4$ ccm	Ca	
		gefunden mg%	bestimmt mg%
0,49388	0,30266	12,28	12,12
0,49661	0,30439	12,28	
0,50032	0,30245	12,12	
0,49888	0,30764	12,36	

Mittel: **12,26** mg%.

Fehler des Mittelwertes: **1,2**%.

Durchschnittliche Abweichung der Einzelmessungen vom Mittelwert: **0,6**%.

Aus obenstehenden Analysen ergibt sich somit die Brauchbarkeit der Bestimmungsmethode sowohl für reine Calciumsalzlösungen als vor allem auch für Magnesium und Eiweiß enthaltende Untersuchungslösungen, insbesondere für Serum und Serumultrafiltrate.[1] Auch für

[1] Vgl. *H. Waelsch* und *S. Kittel*, Mikrochim. Acta **2**, 97 (1937).

klinische Zwecke scheint die Methode geeignet zu sein, da sie leicht und schnell durchführbar ist und einwandfreie Resultate liefert.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Mikro-Calcium-Bestimmungsmethode entwickelt, die nur 0,5 ccm Untersuchungsmaterial benötigt und für Serum und dessen Ultrafiltrate geeignet ist. Das Calcium wird als Oxalat gefällt, mit Hilfe eines Tonfilterstäbchens abgesaugt und mit $^1/_{100}$ n-Kaliumpermanganatlösung titriert. Es wird eine hahnlose Pipette bzw. Bürette angegeben, bei der die Maßlösungen nicht mit den Verschlußelementen in Berührung kommen, und die feinste Abstufungen gestattet. Ferner werden einige andere apparative Hilfsmittel (drehbarer Heiztisch, Spritzflasche, Vorratsgefäß) verwendet. Die Methode ist besonders für Reihenuntersuchungen brauchbar und dürfte auch für klinische Zwecke wegen ihrer schnellen und leichten Durchführbarkeit geeignet sein.

Dem Direktor des Kaiser-Wilhelm-Institutes für physikalische Chemie und Elektrochemie, Herrn Professor Dr. *P. A. Thiessen*, danke ich für die Anregung zu dieser Untersuchung und das fördernde Interesse, das er ihrer Durchführung entgegenbrachte. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die Gewährung eines Stipendiums zu Dank verpflichtet.

Summary.

A micro-method for the determination of calcium has been developed which requires only 0,5 ml. of the material to be examined, and is suitable for use with serum and its ultrafiltrates. The calcium is precipitated as oxalate, the precipitate removed by means of a micro filter-stick, and titrated with 0,01 *N*-potassium permanganate. Special forms of a pipette or burette without taps are employed, which permit a very accurate graduation. A number of other devices (rotatable hot-plate, wash-bottle, and reservoir) are also employed. The method is particularly adapted for use in series determinations, and is also suitable for clinical purposes on account of its rapidity and easy technique.

Résumé.

On a développé une micro-détermination du calcium, qui n'a besoin que de 0,5 cm^3 de la matière à essayer, pour le sérum et les ultra-filtrats de celui-ci. Le calcium est précipité comme oxalate calcique, filtré par aspiration à l'aide d'une baguette à filtrer et titré avec permanganate de potasse 0,01 n. On décrit une pipette ou burette sans robinet, où les solutions n'ont pas de contact avec la fermeture et qui permet une gradation très précise. De plus on employe quelques autres moyens auxiliaires apparatifs (une table rotatoire qui peut être chauffée [drehbarer Heiztisch], une pisette, un vaisseau à réactif). La méthode peut servir surtout à des séries d'analyses et sera probablement aussi utilisable pour des recherches cliniques, comme elle peut être exécutée vite et facilement.

Aus der Medizinischen Univ.-Klinik Greifswald. Direktor: Prof. *Gerhardt Katsch.*

Photometrische Mikrobestimmung des Silbers.

Von

H. G. Krainick.

(Eingelangt am 17. September 1938.)

Zur quantitativen Erfassung kleinster Silbermengen eignen sich die bekannten titrimetrischen Silberbestimmungen schlecht, da die Silbertitration mit $^1/_{100}$ n- oder gar $^1/_{200}$ n-Maßlösungen — gleichgültig nach welchem Prinzip — nicht mit befriedigender Genauigkeit durchführbar ist. Die mangelhafte Leistungsfähigkeit der üblichen argentometrischen Verfahren als Mikromethode erhellt aus der Größe ihrer Titrationsfehler, die selbst bei Verwendung kleiner Titrationsvolumina immerhin noch 0,05 bis 0,1 ccm $^1/_{100}$ n-Silbernitrat, d. s. 0,054 bis 0,108 mg Ag, betragen. Zur Entwicklung einer empfindlichen Mikrobestimmung des Silbers stehen eine Reihe neuerer analytischer Prinzipien zur Verfügung, von denen hier nur die äußerst empfindliche Fällungsreaktion mit Thionalid nach *R. Berg*[1] angeführt werden soll. Trotz ihrer Empfindlichkeit bedienten wir uns der *Berg*schen Reaktion nicht, da sie als allgemeiner Schwermetallnachweis nicht spezifisch genug ist und sich außerdem nicht ohne weiteres photometrisch auswerten läßt. Statt dessen legten wir unserer Mikromethode die das *Mohr*sche Prinzip kennzeichnende Reaktion des Silbers mit Chromaten zugrunde und bemühten uns, den Farbgehalt des Silberchromates photometrisch zu ermitteln. Dieser Absicht stand zunächst die Tatsache der praktischen Unlöslichkeit des Silberchromates entgegen. Auf der Suche nach Lösungsstabilisatoren, die das farbige Silbersalz in kolloidaler Lösung halten sollten, machten wir die überraschende Beobachtung, daß beim Mischen einer wäßrigen Kaliumchromatlösung mit einer alkoholischen Silbernitratlösung das sich bildende Silberchromat in eine kolloidale Lösung von ausgeprägtem Farbcharakter übergeht. Dieses merkwürdige Kolloidphänomen ermöglichte die kolorimetrische, bzw. photometrische Auswertung der Silberchromatreaktion und schuf damit die Voraussetzung zu einer sehr empfindlichen Mikrobestimmung des Silbers. Noch 50 γ Silber lassen sich danach mit ausreichender Genauigkeit bestimmen!

[1] *R. Berg, E. S. Fahrenkamp* und *W. Roebling,* Mikrochemie, *Molisch*-Festschrift 42 (1936).

Das analytische Prinzip.

Allgemeines. Die Natur des interessanten Kolloidphänomens, das unserem analytischen Prinzip zugrunde gelegt ist, kann hier im einzelnen nicht näher untersucht werden. Es sei dazu lediglich bemerkt, daß diese kolloidale Reaktion mit deutlich positiver Wärmetönung verläuft und enge Beziehungen zu dem „Retraktionseffekt", der beim Mischen von Alkohol und Wasser auftritt, aufzuweisen scheint. Die kolloidale Lösung des Silberchromates in wäßriger Phase gelingt in Anwesenheit von Schutzkolloiden wie Gummiarabicum, Gelatine, Stärke u. dgl. ebensowenig wie durch Zusatz anderer hydrophiler Lösungsmittel, z. B. Glycerin. Ob sich die kolloidalen Kräfte des Alkohol-Wasser-Systems in ähnlicher Weise auch für andere analytische Zwecke nutzbar machen lassen, soll später geprüft werden.

Tabelle I. Optimale Mischungsverhältnisse von organischer und wäßriger Lösungsphase.

Organisches Lösungsmittel	Mischungsverhältnis mit Wasser
Methanol ...	5,5:4,5
Äthanol	4,0:6,0
Propanol ...	3,5:6,5
Aceton	4,0:6,0

Das organische Lösungsmittel. Die Kolloidreaktion wird von allen organischen Lösungsmitteln, die mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar sind, grundsätzlich in gleicher Weise gezeigt. So lassen sich die Alkohole bis einschließlich zum Propanol sowie das Aceton für die Reaktion verwenden. Die optimalen Mischungsverhältnisse sind, wie aus nebenstehender Tabelle ersichtlich, für jedes Lösungsmittel verschieden. Bei den Alkoholen nimmt der Anteil der wäßrigen Phase in der Mischung mit steigender C-Atomanzahl zu. Aceton gleicht bezüglich seines Mischungsoptimums etwa dem Äthanol. Die Art des Lösungsmittels hat auf den Dispersionsgrad der kolloidalen Silberchromatlösung wenig Einfluß. Methanol, Äthanol, n-Propanol und Aceton ergeben etwa die gleiche Dispersion, nur iso-Propanol führt zu gröber-dispersen Lösungen. Dagegen ist die Stabilität des anorganischen Sols viel stärker von der Natur des organischen Lösungsmittels abhängig. Die stabilsten Lösungen geben Methanol, Äthanol und Aceton; beim n-Propanol läßt die Stabilität bereits erheblich nach und erreicht beim iso-Propanol ein Minimum. Das Sol bleibt ohne wesentliche Änderung des Dispersionszustandes im geschlossenen Gefäß unter Lichtschutz bei Zimmertemperatur über zwei Wochen lang stabil. Die Stabilität läßt sich merkwürdigerweise beim Methanol, Propanol und Aceton durch teilweises Abdampfen des organischen Lösungsmittels (im Vakuum) noch steigern. Den größten kolloidalen Effekt erzielt man, wenn man die wäßrige und organische Phase in möglichster Reinheit miteinander mischt. Der maximale Wassergehalt des organischen Lösungsmittels, der noch eine genügend feine Dispergierung gestattet, liegt bei 10 bis 12%. Die Mischungsrichtung spielt für den Erfolg der Reaktion keine nachweisbare Rolle. Für die Wahl des

organischen Lösungsmittels ist nicht zuletzt seine Lösungsfähigkeit für Silbersalze bzw. für die argentometrisch zu bestimmenden Substanzen (Chloride, Rhodanide, fettsaure Salze u. dgl.) entscheidend. Die Lösungsfähigkeit der Alkohole und auch des Acetons für Silbernitrat ist verhältnismäßig groß: so lösen sich in 92,5%igem Äthanol bei 15° C 3,7%, in n-Propanol allerdings unter gleichen Bedingungen nur noch etwa 1,5% Silbernitrat. Auch die Lösungsfähigkeit der Alkohole für Chloride darf im Rahmen einer Mikromethode als ausreichend bezeichnet werden: in 90%igem Äthanol lösen sich bei 20° C noch 0,3% NaCl, das entspricht immerhin einer etwa $^1/_{20}$ n-Lösung.

Tabelle II. Einfluß der Chromatkonzentration auf die Farbreaktion.

K-Chromat mg%	Extinktionskoeffizienten (k) für mg% Ag		
	1,08 k	3,24 k	5,40 k
10	0,149	0,535	0,971
20	0,174	0,569	0,971
30	0,194	0,582	0,971
40	0,194	0,582	0,971
60	0,194	0,582	0,971
80	0,194	0,582	tynd.
100	0,194	tynd.	„

(tynd. = photometrische Messung nicht möglich wegen störenden Tyndalleffektes.)

Die Silberkonzentration. Die Dispersion des Silberchromatsols vergröbert sich mit zunehmender Konzentration des Silbersalzes. Die obere Grenzkonzentration, bei der noch eine einwandfreie Dispersion erzielt wird, liegt bei 5,40 mg% Ag, berechnet auf die Gesamtfarblösung (wäßrige Chromatlösung + organische Silbernitratlösung). Die untere Grenze der Silberkonzentration darf 1,08 mg% Ag nicht wesentlich unterschreiten, damit die Farbreaktion dem *Lambert-Beer*schen Gesetz noch gehorcht. Im Vergleich zu den Reaktionsverhältnissen in rein wäßriger Phase ist die Empfindlichkeit der Silberchromatreaktion durch den Zusatz der organischen Phase erheblich gesteigert. Vielleicht läßt sich diese Beobachtung für eine Verfeinerung des qualitativen Nachweises kleinster Silbermengen nutzbar machen. Auch die *Mohr*sche Silbertitration könnte in entsprechender Weise empfindlicher gestaltet werden.

Die Chromatkonzentration. Ebenso unerläßlich wie die Feststellung des geeigneten Silberkonzentrationsbereiches ist die Kenntnis der optimalen Konzentration des Chromates. Aus der Tabelle II ist zu ersehen, wie einerseits höhere Chromatkonzentrationen das Silberchromatsol destabilisieren (zunehmendes Tyndallphänomen!) und wie anderseits zu geringe Konzentrationen die Gültigkeit des *Lambert-Beer*schen Gesetzes aufheben. Das Optimum der Chromatkonzentration fanden wir bei etwa 40 mg% Kaliumchromat (wieder auf die Gesamtfarblösung berechnet).

Die Wasserstoffionenkonzentration. Wie allgemein bekannt ist, bildet sich das Silberchromat nur in neutralem oder schwach organisch-saurem Milieu; geringste Mengen von Mineralsäuren oder Laugen verhindern da-

gegen die Reaktion. Unter unseren Versuchsbedingungen hemmen organische Säuren (Essigsäure) erst bei einem p_H von 4,5. Oberhalb dieser Grenze (bei $p_H = 6{,}3$ tritt Trübung des Sols, bei $p_H = 5{,}5$ Ausfällung des Silberchromates ein) setzen dieselben Säuren nur die Stabilität des Silberchromatsols herab, ohne jedoch die Bildung des Silbersalzes an sich zu beeinträchtigen. Zwischen $p_H = 7$ und 6,4 wird weder der kolloidale Dispersionsgrad, noch überhaupt die Silberchromatreaktion durch die organische Säure merklich beeinflußt. Gegen Laugen ist die Reaktion noch empfindlicher: bereits bei $p_H = 7{,}2$ wird die Silberchromatbildung stark gehemmt, um bei $p_H = 7{,}4$ vollständig unterbunden zu werden.

Die Reaktionsbedingungen. Die kolloidale Natur des Reaktionsvorganges erfordert zu seinem gleichmäßigen Verlauf nicht nur ein bestimmtes p_H-Bereich, sondern selbstverständlich auch die optimale Gestaltung aller anderen physikalisch-chemischen Reaktionsbedingungen. Besonders stark abhängig erwies sich der Dispersionsgrad des Farbsols von der Größe der Oberflächen, die beim Mischen der wäßrigen und organischen Lösungsphase wirksam werden. So fällt die Dispersion erheblich gröber und auch die Farbintensität ungleichmäßiger aus, wenn die Mischung in engen Probiergläsern statt in Gefäßen mit größerer Bodenfläche vorgenommen wird. Bei Verwendung von 10 ccm Gesamtvolumen (z. B. 4 ccm Chromatlösung + 6 ccm alkoholischer Silbernitratlösung) haben sich Erlenmeyerkölbchen von 25 ccm Inhalt am besten bewährt. Für größere Volumina sind entsprechend geräumigere Kölbchen von gleicher Form zu wählen. Weiterhin kann der Mischungsvorgang durch schnelles Zusammengießen der beiden Phasen sowie durch kräftiges Schütteln — schon während des Zusammengusses — beschleunigt werden. Eine letzte Verfeinerung der Dispersion des Farbsols erzielt man durch intensive Kühlung während der Reaktion, die, wie oben bereits erwähnt, deutlich exothermen Charakter zeigt. Schließlich gilt es, die allen Silbersalzen eigene Photosensibilität zu berücksichtigen und möglichst unter Lichtschutz zu arbeiten.

Die Photometrie. Da die kolloidale Silberchromatreaktion unter den oben angegebenen Voraussetzungen dem *Lambert-Beer*schen Gesetz gehorcht, begegnet die photometrische Auswertung der Farbreaktion keinen Schwierigkeiten. Der kolloidale Charakter der Farblösung stört die photometrische Messung nicht, solange kein merkliches Tyndallphänomen auftritt. Das Tyndallisieren läßt sich aber durch sorgfältige Einhaltung aller optimalen Reaktionsbedingungen praktisch ganz vermeiden. Wir führten die photometrischen Messungen mit dem bewährten Stufenphotometer der Fa. Carl Zeiß-Jena durch. Als Absorptionsfilter standen die Spektralfilter S 47 und S 50 zu engerer Auswahl. Die optimale Absorption erreichten wir mit dem Violettfilter S 47. Mit beiden Filtern bestimmten wir die Werte der in den Abb. 1 und 2 wiedergegebenen Eichkurven. Die

Schichtdicke, in der die Messung erfolgt, pflegt sich nach der jeweiligen Farbintensität zu richten. Beim Arbeiten mit 10 ccm Farblösung verwandten wir meist Küvetten von 10 mm Schichtdicke, für besonders tief gefärbte Lösungen solche von 5 mm und für schwach gefärbte Lösungen solche von 20 mm Schichtdicke. In den Vergleichsstrahlengang schalteten wir zur Kompensation der Kaliumchromatfarbe eine entsprechende Lösung dieses Salzes. Der Verbrauch von Chromat bei der Silberreaktion bedingt theoretisch einen Fehler, der aber selbst bei maximalen Silber-

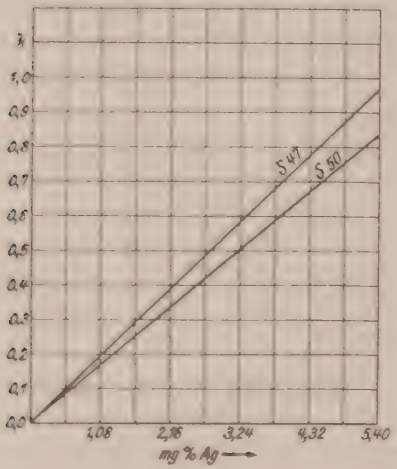


Abb. 1.

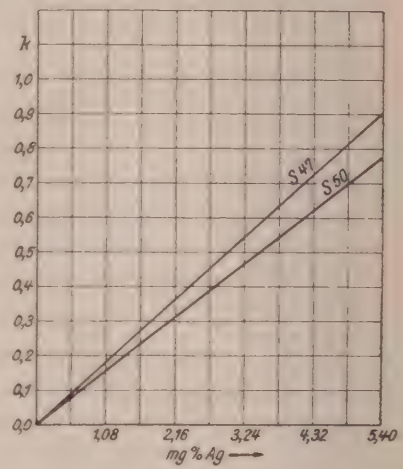


Abb. 2.

mengen innerhalb des photometrischen Ablesefehlers fällt und daher vernachlässigt werden darf. Die Eichung unserer Methode nahmen wir unter den üblichen Kautelen vor. Wie die Abb. 1 und 2 veranschaulichen, verlaufen die Eichkurven für Methanol-, Äthanol- und Acetonsilberlösungen vollständig gleich, während die Eichkurve für n-Propanolsilberlösungen im Sinne geringerer Absorption von den anderen etwas abweicht. Statt die Konzentrationen aus der Eichkurve abzulesen, kann man die entsprechenden Werte auch auf Grund der bekannten photometrischen Formel: Konzentration (c) = Extinktionskoeffizient (k) mal Faktor (F) errechnen. Gemäß unserer Eichung unter Benutzung des Filters S 47 lautet der Faktor für Methanol-, Äthanol- und Acetonsilberlösungen $F = 5{,}561$; für n-Propanolsilberlösungen $F = 5{,}960$. Da die verschiedene Qualität der Reagenzien nicht unerhebliche Differenzen bei der Eichung verursachen kann, empfehlen wir, sich stets selbst eine Eichkurve anzulegen, bzw. den Faktor (F) zu bestimmen. Durch Verwendung von Kleinküvetten oder gar Mikroküvetten lassen sich noch wesentlich kleinere Mengen Silber (bis zu 20 γ) erfassen. Da die Farbreaktion dem *Lambert-*

*Beer*schen Gesetz gehorcht, können die Farbwerte auch kolorimetrisch ermittelt werden. Jedoch stellen sich beim Vergleich sehr schwach gefärbter Lösungen Schwierigkeiten bei der Ablesung ein.

Das Verfahren.

Reagenzien: Äthanol absolut reinst (redest.). Kaliumchromat (analysenrein), 0,1%ige wäßrige Lösung.

Geräte: Erlenmeyerkölbchen von 25 ccm Inhalt, evtl. aus braunem Glas oder mit schwarzem Papier oder Lack überzogen.

Bestimmung. Das zu bestimmende Silbersalz muß als Nitrat in mindestens 90%iger alkoholischer Lösung vorliegen. 4 ccm der alkoholischen Silbernitratlösung werden in ein lichtgeschütztes 25-ccm-Erlenmeyerkölbchen pipettiert und in Eiswasser gekühlt. Dann werden 6 ccm 0,1%ige Kaliumchromatlösung in ein zweites ebensolches Kölbchen gefüllt und in gleicher Weise gekühlt. Nach ausreichender Kühlung wird die wäßrige Chromatlösung in schnellem Guß unter kräftigem Schütteln zu der alkoholischen Silbernitratlösung zugefügt und etwa 1 Minute weitergeschüttelt. Die annähernd auf Zimmertemperatur erwärmte Lösung wird unter Vorschaltung des Filters S 47 in 5- bis 20-mm-, meist in 10-mm-Schicht gegen eine Kompensationslösung, die sich aus 4 ccm 90%igem Alkohol und 6 ccm Kaliumchromatlösung zusammensetzt, photometriert. Der Silbergehalt wird entweder direkt aus der Eichkurve abgelesen oder nach der angeführten Formel: $c = k \times F$ mg% Ag berechnet. Will man statt Äthanol Methanol, Aceton oder n-Propanol verwenden, so muß das aus Tabelle I ersichtliche, für das jeweilige Lösungsmittel optimale Mischungsverhältnis berücksichtigt werden; im übrigen wird die Bestimmung ganz in der gleichen Weise durchgeführt.

Das Anwendungsbereich.

Das Anwendungsbereich der beschriebenen Methode erfährt dadurch eine Einschränkung, daß das Silbernitrat in organischer Lösung zur Reaktion kommen muß. Am einfachsten gestaltet sich das Verfahren, wenn die argentometrisch zu bestimmenden Substanzen ebenfalls organisch gelöst vorliegen. In diesem Falle fällt man die Substanz, z. B. in alkoholischer Lösung mit einer gemessenen Menge alkoholischen Silbernitrats, zentrifugiert vom Niederschlag ab und bestimmt den Überschuß des angewandten Silbernitrats in einem aliquoten Teil der überstehenden Flüssigkeit photometrisch nach dem beschriebenen Verfahren. Die vorgelegte Menge Silbernitrat wird ebenfalls photometrisch ermittelt, um das umständliche „Stellen" der Silbernitratlösung zu vermeiden. Am besten eignen sich für dieses Verfahren natürlich organische Substanzen, die sich in den zur Auswahl stehenden organischen Solventien leicht lösen. So lassen sich z. B. kleinste Mengen höherer Fettsäuren (Stearinsäure, Palmi-

tinsäure, Ölsäure) mit großer Genauigkeit argentometrisch bestimmen. Aber auch die anorganischen Chloride, vor allem Natriumchlorid, lösen sich — wie bereits oben erwähnt — noch ausreichend in Alkohol, um durch die direkte Argentophotometrie erfaßt zu werden. Auf dieser Grundlage arbeiten wir zur Zeit eine empfindliche Bestimmung von Chloriden in kleinsten Blutmengen (0,05 bis 0,1 ccm) aus. Läßt sich die Silberfällung nur im wäßrigen Milieu durchführen, so muß die überschüssige Silbernitratlösung weitgehend eingeengt und dann in absolutem Alkohol aufgenommen werden, wobei der Alkohol nicht über 10% verwässert werden darf.

Unsere Methode hat trotz mancher Einschränkung den Vorzug einer besonders großen Empfindlichkeit und dürfte sich vornehmlich für die quantitative Bestimmung von kleinsten Mengen biologischer Substanzen eignen.

Zusammenfassung.

Es wird ein neues Verfahren zur photometrischen Bestimmung kleinster Silbermengen (25 γ) beschrieben. Der Methode liegt die bekannte Reaktion des Silbers mit Chromatsalzen zugrunde, die unter bestimmten kolloidchemischen Voraussetzungen (Mischen einer alkoholischen Silbernitratlösung mit einer wäßrigen Chromatlösung) statt zur Ausfällung von unlöslichem Silberchromat zu einer kolloidalen, feindispersen Farblösung führt. Unter optimalen Reaktionsbedingungen, die in der vorstehenden Arbeit genau ermittelt wurden, gehorcht diese Farbreaktion dem *Lambert-Beer*schen Gesetz und läßt sich kolorimetrisch bzw. photometrisch quantitativ innerhalb kleiner Fehlergrenzen auswerten.

Summary.

A new process for the photometric determination of very small amounts (25 γ) of silver is described. The method used is based on the well-known reaction of silver salts with chromates, which, under suitable conditions favouring the production of colloids (e. g. mixing of an alcoholic solution of silver nitrate with an aqueous solution of a chromate) do not give a precipitate of insoluble silver chromate but yield a coloured colloidal solution. Under optimum conditions of reaction, which have been accurately worked out and are cited in the paper, this colour reaction obeys the *Lambert-Beer* law, and may be utilised for colorimetric or photometr icquantitative determinations, the errors involved being small.

Résumé.

On décrit une nouvelle méthode pour la détermination photométrique des quantités très petites d'argent (25 γ). La méthode base sur la réaction bien connue d'argent avec des chromates, qui conduit, sous des certaines suppositions (combinaison d'une solution d'azotate d'argent alcoolique avec une solution aqueuse de chromate), à une solution colorée colloïdale d'une dispersion ténue au lieu de la précipitation du chromate d'argent insoluble. Cette réaction colorante obéit à la loi de *Lambert-Beer*, supposé des conditions optimes de la réaction, qu'on a déterminées précisement au travail précédent, et l'on peut élaborer colorimétrique ou photométrique entre des limites d'erreur assez petites.

Chemical Laboratory, Dacca University

A Note on Some Modifications of Pregl's Method for the Micro-analytical Determinations of Carbon and Hydrogen in the Humid Atmosphere of Summer of a Tropical Country

By

M. C. Nath

(Eingelangt am 26. September 1938.)

Great difficulties were encountered in micro-analytical estimations of carbon and hydrogen in artostenone, the new stenone isolated by the author from an Indian summer fruit, and its derivatives,[1] during Indian summer and rainy days in the month of June. All the precautions laid down by *F. Pregl*[2] were tried but with no success.

About twenty determinations were made with purest samples of cholesterol, benzoic acid and azobenzene but each time low and dissimilar results were obtained (about 2–4% lower) for carbon.

It was suspected that the ascarite tube could not absorb all the carbon dioxide and accordingly a second tube was inserted; but this was not found to gain in weight at all. The percentage of hydrogen was not however found to be so high as to account for the observed deviation. Thus the possibilities remaining open are:—

1. The substance was not fully burnt.

2. Trace of CO_2 might escape due to the back pressure generated as the combustion began.

3. There might be leakage through the rubber connections.

4. The connecting tubes might absorb CO_2 as they became somewhat soft and porous through heat when the combustion was in progress.

In order to do away with these sources of error the following modifications were adopted:—

1. The first possibility of errors was eliminated by increasing the period of actual combustion to fifteen minutes in place of ten, in a current of oxygen and sweeping being continued for ten minutes more.

---

[1] *M. C. Nath*, Ztschr. physiol. Chem. **247**, 9 (1937); **249**, 71, 76, 78 (1937).

[2] *F. Pregl*, Quantitative Organic Micro-analysis (English translation), pp. 16–69. 1924.

2. and 3. It was observed that substances containing high percentages of carbon (more than 80%), evolved such an enormous volume of gas during the time of combustion that sometimes a great pressure was created inside the combustion tube which stopped for a while the passage of oxygen through the bubble counter or sometimes caused a back current. The pressure inside the combustion train being higher than that of the atmosphere there was every possibility of the gas escaping through. Especially as temperature of the atmosphere was as high as 32° C., the gas might have a greater tendency to escape than it would be in the colder regions. Hence it was thought desirable that the rate at which oxygen and air was drawn, should be increased from 3–4 c.c. per minute (as suggested by *Pregl*) to 4–5 c.c. per minute. By actual trial this modification which effected sweeping out of the gas generated, continuously gave fruitful results.

Figure 1.

3a. As the density of a gas varies inversly with the temperature, the gas has a greater tendency to escape through rubber connections in hotter climates than in the colder regions and special consideration was required in setting the connecting tubes supplied by Messrs. Paul Haack in order, before use.

Rubbing of the inner capillary of the tube with cotton moistened with glycerine and then with dry cotton in sticks, as is generally done, was avoided. For in so doing there might be produced either cracks or injuries in the capillary or any cotton fibre might stick to it, thus leaving space for the gas to leak through.

A special rubbing rod with a diameter equal to or a little greater than that of the connecting ends of the absorption tubes (calcium chloride and ascarite tube), as shown in the figure 1, was found suitable. The wavy and pointed end was moistened with glycerine and introduced gently into the capillary of the connecting rubber tubing cut to the suitable length. After removing the rod, the end was freed from the waxy substance coming out of the capillary, by means of a piece of dry silk. The rod was again moistened with glycerine and the process repeated several times till there was no free wax inside the rubber tubing. In order to remove glycerine from the capillary a similar dry rod was alternately inserted into it and rubbed with a dry piece of silk. Then the rod is moved backwards and forwards through the capillary for a number of times, which gives a very smooth surface in the capillary and helps much in guarding against any leakage of the gas when in use.

4. To obviate any risk of gas being absorbed in the rubber tubing, especially in the one between the combustion tube and the calcium chloride tube which is more exposed to injury on account of the greater degree of heating, fresh tubing prepared as above, was used for each experiment. The connecting tubes between the two absorption tubes and between the ascarite tube and the guard tube were changed after three combustions.

Influence of atmospheric humidity

Another difficulty experienced was the absorption of CO_2 and water vapour in blank experiments. During the rainy season the moisture content of the atmosphere varied from time to time. In a series of blanks done on the same day the increase in weight of the calcium chloride tube and the ascarite tube was found varying from 0,4 mg. to 0,6 mg. and 0,1 mg. to 0,15 mg. respectively. Sometimes it so happened that there was a heavy shower during the blank experiment while it was fine during the actual combustion of a substance. The following modifications were found suitable for ameliorating this source of error.

1. When the combustion and sweeping out were over, the end of the ascarite tube remote to the calcium chloride tube was disconnected from the guard tube and a cap put on, similarly the calcium chloride tube was capped at the combustion tube end. The absorption tubes were then transferred to the balance room, the middle rubber connection being retained.

2. Not only the temperature of the balance room was so maintained that it was always slightly higher than that in the combustion room, but during the period of experiment its door and windows were also kept closed. The door was opened only for a moment for entrance and exit. In this way the atmospheric moisture content of the balance room was kept almost constant throughout the hours of work.

3. Two blank experiments were made, one just preceeding and the other just following the actual experiment, and the mean values of the two blanks (changes in the weight of the calcium chloride tube and the ascarite tube) were taken as those from one and deduced from the values of the real experiment.

Another difficulty was noticed by the author; before removing the absorption tubes after the combustion is over, if the outlet tube (Syphon) of the *Mariotte* flask is turned upwards, as is usual, the water level in the tube of the *Mariotte* flask rises up and consequently a slight back current is generated through the combustion train thus causing water vapour to flow from the guard tube, if any, to the ascarite tube and bringing forth a new factor of error. Closing the rubber connection in between the guard tube and the *Mariotte* flask by means of a screw clip might cause a back pressure through the combustion train.

Hence, before removing the absorption tube from the combustion apparatus the three-way-cock was so turned as to stop the gas current for a moment while the absorption tubes were disconnected and capped. The current of air was then allowed to pass through the combustion tube by turning the three-way-cock through the required angle.

Taking all these precautions it was possible, even on a summer rainy day, to determine accurately the percentage of carbon and hydrogen of a very small quantity (3–5 mg.) of organic substance.

The author wishes to record his thanks to Prof. *J. C. Ghosh* and Dr. *K. P. Basu* for their encouragement during the work.

Summary

Pregl's method for the micro-analytical determination of carbon and hydrogen of an organic substance did not give satisfactory results in the humid atmosphere of summer in India, a lower percentage of carbon being always obtained.

The following modifications were found essential.

1. The period of actual combustion was raised from 10 to 15 minutes.

2. The rate at which the air or oxygen was drawn was increased from 3–4 c. c. per min. to 4–5 c. c. per min., in order to do away with the extra pressure generated inside the combustion train.

3. A special method has been adopted in cleaning the connecting tubes supplied by Messrs. P. Haack, before use.

4. The connecting tube between the combustion tube and the calcium chloride tube which is more exposed to injury, was changed after each combustion. The other tubings connecting the absorption tubes and the guard tube, were changed after three combustions.

5. The pair of absorption tubes after disconnection from the combustion apparatus was capped on two ends (the middle rubber connection being retained) and transferred to the balance room.

6. Particular attention was paid that the moisture content of the balance room remained almost constant throughout the hours of work.

7. Two blank experiments were made, one just preceeding and the other just following the actual experiment with the substance. The mean of the two was taken as the result of one blank.

Zusammenfassung.

*Pregl*s Methode für die mikroanalytische Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Substanzen lieferte in der feuchten Atmosphäre eines Sommers in Indien keine zufriedenstellenden Ergebnisse, da dauernd zu niedrige Prozentgehalte an Kohlenstoff erhalten wurden.

Folgende Abänderungen stellten sich als notwendig heraus:

1. Die Dauer der tatsächlichen Verbrennung der Substanz wurde von 10 auf 15 Minuten erhöht.

2. Die Geschwindigkeit des Durchleitens von Luft oder Sauerstoff wurde von 3 bis 4 ccm in der Minute auf 4 bis 5 ccm gesteigert, um den im Innern des Verbrennungssystems herrschenden Überdruck zu beseitigen.

3. Ein besonderes Verfahren wurde eingeführt, um die von der Firma P. Haack gelieferten Verbindungsschläuche vor dem Gebrauch zu reinigen.

4. Das zwischen dem Verbrennungsrohr und dem Chlorcalciumrohr befindliche Verbindungsschlauchstück wurde nach jeder Verbrennung ausgewechselt, da es in höherem Maße schädlichen Einflüssen ausgesetzt ist als die anderen Verbindungsschläuche, die die Verbindung der Absorptionsröhren untereinander sowie mit dem Schutzrohr herstellen. Diese Schlauchstücke wurden nach je drei Verbrennungen ausgetauscht.

5. Die beiden Absorptionsgefäße blieben nach der Abnahme vom Verbrennungsrohr untereinander verbunden, während sie an den beiden äußeren Enden mit Verschlüssen versehen wurden. In diesem Zustande wurden sie in das Waagzimmer gebracht.

6. Besondere Aufmerksamkeit wurde darauf verwendet, daß der Feuchtigkeitsgehalt des Waagraumes während der Arbeitsstunden fast völlig konstant blieb.

7. Unmittelbar vor und ebenso unmittelbar nach der wirklichen Verbrennung der Substanz wurde je ein Blindversuch angestellt; der Mittelwert beider wurde bei der Verbrennung als „Blindwert" in Rechnung gestellt.

Résumé.

La méthode de *Pregl* pour la micro-détermination du carbone et de l'hydrogène d'une substance organique ne donnait pas des résultats satisfaisants dans l'air humide d'été des Indes; on recevait toujours un percentage trop bas du carbone.

Les modifications suivantes étaient d'importance:

1° Le temps de combustion était augmenté de 10 à 15 minutes.

2° La mésure de l'air ou de l'oxygène, qu'on faisait passer, était augmentée de 3—4 cm^3 par minute à 4—5 cm^3 par minute, pour diminuer la surpression qui se forme au cours de la combustion.

3° On a accepté une méthode spéciale pour le nettoyage des raccords en caoutchouc, faits pour nous par les M. M. P. Haack.

4° Le raccord en caoutchouc raccordant le tube à combustion avec le tube pour chlorure de calcium a été échangé après chaque combustion, car il est exposé beaucoup plus à l'usure que les autres. Les autres raccords en caoutchouc, raccordants les tubes à dessécher pour l'absorption et le tube de sûreté, ont été echangés après chaque troisième combustion.

5° La paire des tubes à dessécher pour l'absorption était fermée — après avoir rompu la communication avec l'appareil de combustion — aux deux bouts extérieurs (on a retenu le raccord en caoutchouc au milieu) et portée dans la salle des balances.

6° On faisait attention surtout que le contenu en humidité de la salle des balances était à peu près le même pendant le temps du travail.

7° On faisait deux essais témoin, l'un justement avant, l'autre tout de suite après la combustion de la substance à analyser. La valeur moyenne des deux essais était prise alors comme résultat de l'essais témoin.

Aus dem Institut für anorganische Chemie der Universität Cernăuți.

Nachweis und Bestimmung des Silbers auf mikrochemischem Wege mit Hilfe von mit reduzierenden Lösungen getränktem Filtrierpapier.

Von

N. D. Costeanu.

(Eingelangt am 3. Oktober 1938.)

In verschiedenen vorhergehenden Mitteilungen habe ich gezeigt, wie man Filtrierpapier zum Nachweis und zur Bestimmung anorganischer Elemente verwenden kann und wie sich diese Methode zur Mikrobestimmung dieser Elemente benützen läßt.[1]

Im Falle des Silbers wird das Filtrierpapier, entgegengesetzt wie bei Quecksilber und Blei, mit Lösungen reduzierender Substanzen getränkt und an der Luft getrocknet. Hierauf ruft man mit Silbernitratlösungen bekannten Gehaltes Farbflecke hervor.

Folgende Substanzen sind fähig, mit dem Silbersalz in den Poren des Papieres zu reagieren und verschiedene Farbflecke zu erzeugen: Ferriammoniumcitrat, Hydrochinon, Pyrogallol und Tannin in wäßrigen Lösungen; Phenylhydrazin und Gallussäure in alkoholischer Lösung; Formaldehyd, Gummi arabicum, Stärke und Eiweiß in alkalischen Lösungen; Chloral in ammoniakalischer Lösung; Borsäure in essigsaurer Lösung; Natriumhydrosulfit, Kaliumbichromat usw.

Am besten eigneten sich aus dieser Reihe folgende Substanzen: Ferriammoniumcitrat, Phenylhydrazin, Hydrochinon, Formaldehyd.

Standardlösungen. 1 g reines Silber wird in Salpetersäure gelöst und sodann die Lösung zu 1 l verdünnt. Diese Lösung enthält 1 mg Silber je Kubikzentimeter. Teile dieser Lösung werden mit Wasser zu bestimmten Standardlösungen mit bekanntem Silbergehalt verdünnt.

So kann man folgende Reihe von Silbernitrat-Standardlösungen erhalten:

Lösung	Nr.	1	enthält	1	mg	Silber	je	Kubikzentimeter,
,,	,,	2	,,	0,5	,,	,,	,,	,,	,
,,	,,	3	,,	0,1	,,	,,	,,	,,	,
,,	,,	4	,,	0,05	,,	,,	,,	,,	,
,,	,,	5	,,	0,01	,,	,,	,,	,,	.

[1] Vgl. *N. D. Costeanu*, Mikrochim. Acta **3**, 136 (1938).

Natürlich lassen sich auch Standardlösungen mit anderem Silbergehalt bereiten.

Reagenzien. Filtrierpapierstreifen werden mit gesättigten Lösungen der oben genannten Substanzen getränkt und dann an der Luft getrocknet.

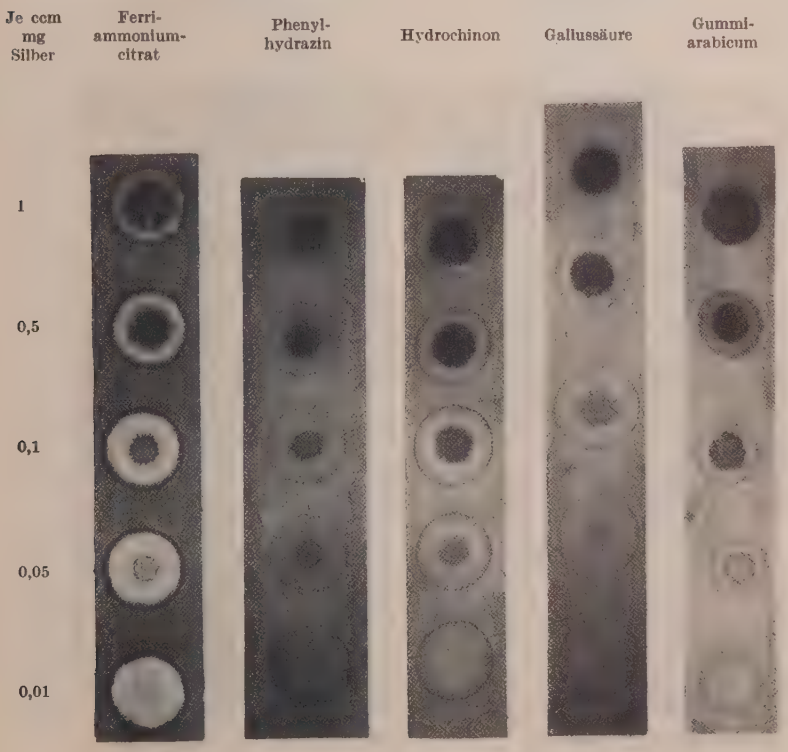


Abb. 1.

Zur möglichst gleichmäßigen Tränkung wird das Filtrierpapier in eine Porzellanschale gelegt, deren Boden ganz von der Flüssigkeit bedeckt ist. Das Papier wird vorsichtig eingelegt, damit es auf der ganzen Fläche ohne Luftblasen am Boden der Schale haftet. Hierauf bewegt man kurze Zeit die Schale, um eine gute Benetzung zu erreichen, gießt die überschüssige Lösung ab und läßt dann das Papier in der Schale an der Luft trocknen.

So erhält man Reagenspapiere mit allen genannten Substanzen.

Vergleichsreihe. Auf die getränkten Filtrierpapierstreifen läßt man mit einem Tropfröhrchen je einen Tropfen der Silbernitrat-Standardlösungen fallen. Auf diese Weise erhält man verschieden gefärbte runde Flecke,

die sofort oder später erscheinen, je nachdem, mit welcher Substanz das Filtrierpapier getränkt wurde. Auf einigen Reagenspapieren erhält man Flecke mit allen Standardlösungen, bei anderen nur zum Teil, je nach der Empfindlichkeit der Substanz, mit der getränkt wurde.

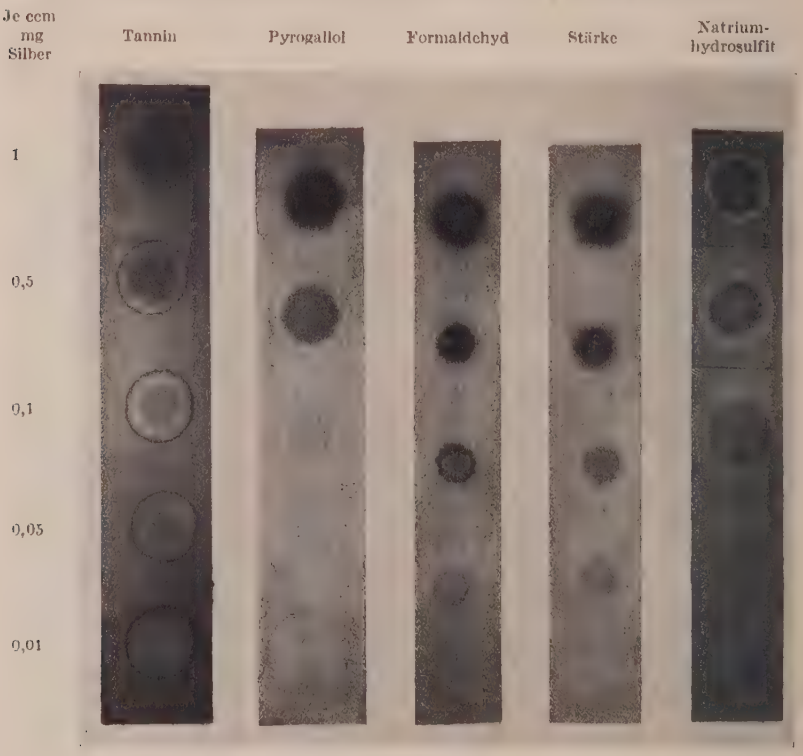


Abb. 2.

So entstehen auf mit Kaliumbichromat getränktem Papier sehr schöne und kennzeichnende Flecke, aber nur mit den Standardlösungen Nr. 1 und 2, während mit Ferriammoniumcitrat getränktes Papier Flecke mit allen Standardlösungen ergibt.

Wenn die auf einem Reagenspapier erhaltenen Flecke nach fallendem Silbergehalt geordnet werden, erhält man eine den fünf Standardlösungen entsprechende Skala von Flecken (Vergleichsreihe).

Die auf den Lichtbildern (Abb. 1 und 2) wiedergegebenen Vergleichsreihen können leider nicht die Farbwerte, noch auch die Eigentümlichkeiten der Farbflecke verdeutlichen.

Empfindlichkeit. Die schwächste Lösung, die noch einen erkennbaren Farbfleck erzeugen kann, ist die Standardlösung Nr. 5 mit einem Silber-

gehalt von 0,01 mg Ag je Kubikzentimeter. Das Volumen eines Tropfens dieser Silberlösung ist gleich einem Viertelkubikmillimeter. Somit kann man mit dieser Methode noch 0,0000025 mg Silber erfassen.

Arbeitsweise. Man trennt das Silber von anderen Elementen, verwandelt es in Nitrat und verdünnt dann die Flüssigkeit zu einem bestimmten Volumen. Aus dieser Lösung wird mit einem Tropfröhrchen ein Tropfen auf ein Reagenspapier gebracht. Den Silbergehalt bestimmt man durch Vergleichen des erzeugten Farbfleckes mit den Farbflecken der Vergleichsreihe.

Die gefundene Zahl multipliziert man mit der Anzahl Kubikzentimeter der Lösung und bezieht das Ergebnis auf die Einwaage.

Praktische Anwendungen.

Die beschriebene Methode kann zur Bestimmung des Feingehaltes von Handelsgegenständen aus Silber oder von versilberten Gegenständen benützt werden.

Silbergegenstände des Handels (Münzen, Bestecke, Medaillen, Schmuck usw.) bestehen aus einer Legierung mit wenigstens 800‰ Silber.

In jedem Lande werden Silbergegenstände staatlich untersucht und nach Feststellung des Feingehaltes mit einer eingeprägten entsprechenden Kennzeichnung versehen.

Die Bestimmung des Feingehaltes der Silbergegenstände kann nach zwei Verfahren erfolgen: 1. Durch die Kupellation auf trockenem Wege und 2. nach der volumetrischen Methode auf nassem Wege.

Das erste Arbeitsverfahren beruht auf zwei Tatsachen: a) Das Silber oxydiert sich an der Luft bei Rotglut nicht, während im Gegensatz dazu andere Metalle, besonders Kupfer, sich in Oxyde verwandeln; b) das Kupferoxyd wird in einer Bleioxydschmelze gelöst und das Gemenge von den porösen Wänden der Kupelle aufgesogen.

Die Ergebnisse dieses Verfahrens haben zwei Fehlerquellen: einerseits die Verflüchtigung eines kleinen Teiles des Silbers und anderseits das Eindringen des Silbers in die Kupelle.

Nach dem anderen Verfahren bestimmt man mit einer Natriumchloridlösung das Silber durch vollständiges Ausfällen als Silberchlorid, während das Kupfer in Lösung bleibt. Die Ergebnisse dieses Verfahrens sind auch mit verschiedenen Fehlern behaftet.

Die oben beschriebene Methode mit Hilfe getränkten Filtrierpapieres gestattet, die Fehlerquellen und Umständlichkeiten der erwähnten Bestimmungsverfahren zu umgehen.

Beispiele.

1. Von einer Silbermünze wurden 110 mg eingewogen. Nach dem Lösen in Salpetersäure wurde auf 100 ccm verdünnt. Mit einem Tropfen

dieser Lösung wurde ein Fleck auf mit Ferriammoniumcitrat getränktem Filtrierpapier erhalten, der in der Vergleichsreihe identisch mit dem Fleck der Standardlösung Nr. 1 war. Diese Lösung enthält 1 mg Silber je Kubikzentimeter, also 100 mg Silber auf 100 ccm. Auf die Einwaage bezogen, betrug demnach der Feingehalt 909‰ Silber.

2. Von einem Bild aus getriebenem Silber wurden 60 mg eingewogen und zu 100 ccm gelöst. Der Farbfleck war identisch mit dem der Standardlösung Nr. 2, die 0,5 mg Silber je Kubikzentimeter, also 50 mg auf 100 ccm, enthielt. Auf die Einwaage bezogen, ergab sich ein Feingehalt von 833‰ Silber.

Kontrollanalysen nach dem Kupellationsverfahren.

	Einwaage	Ag gefunden	‰ Ag
1. Münze ...	110 mg	99 mg	900
2. Bild	60 „	49 „	817

Zusammenfassung.

Filtrierpapierstreifen werden mit gesättigten Lösungen bestimmter chemischer Substanzen getränkt und an der Luft getrocknet. Auf jeden Streifen wird nacheinander je ein Tropfen verschiedener Silbernitratlösungen bekannter Konzentration gebracht. Es bilden sich verschieden gefärbte Flecke, die, nach ihrer Intensität geordnet, eine Vergleichsreihe ergeben.

Die zu untersuchende Lösung, in der sich das Silber als Nitrat befindet, wird auf ein bestimmtes Volumen verdünnt. Ein Tropfen dieser Lösung wird auf einen Streifen des getränkten Filtrierpapieres gebracht. Der erhaltene Farbfleck gibt an Hand der Vergleichsreihe den Silbergehalt der zu untersuchenden Lösung an.

Summary.

Strips of filter paper are impregnated with saturated solutions of various chemicals, and dried by exposure to air. A series of drops of silver nitrate solutions of different (but known) concentrations is then placed on each strip, whereby a number of differently coloured spots are formed, which form a comparison series when arranged in order of their intensity. The solution under examination, in which the silver is present as its nitrate, is diluted to a definite volume, and a drop of this solution is then placed upon a strip of the prepared filter paper. The resultant coloured spot is matched from the comparison series and the silver content of the solution thus found.

Résumé.

Des bandes du papier à filtre sont imprégnées avec des solutions saturées de certaines substances chimiques et séchées à l'air. Sur chaque papier, on met, l'une après l'autre, une goutte de différentes solutions d'azotate d'argent d'une concentration connue. Des taches, différemment colorées, qui donnent après leur intensité une série-type, se forment.

La solution à essayer, qui contient l'argent comme azotate, est diluée à un certain volume. Une goutte de cette solution est portée sur le papier à filtre imprégné. La tache colorée, ainsi obtenue, donne, comparée avec la série-type, la teneur en argent de la solution essayée.

Aus der Anstalt für Pflanzenbau und Pflanzenzucht der Universität Jena.
Vorstand: Prof. Dr. *Brouwer*.

Eiweißbestimmung in Melilotus albus mit Hilfe des Pulfrichschen Stufenphotometers.

Von

E. Funck.

(Eingelangt am 11. Oktober 1938.)

Bei den Massenbestimmungen von Eiweiß in *Melilotus* hat sich in unserem Laboratorium die nachfolgende Methode sehr gut bewährt:

Man erhitzt 0,5 g der feingemahlenen *Melilotus*-Substanz mit 5 ccm konz. Schwefelsäure, 3 g Kaliumsulfat und etwa 0,05 g Cerdioxyd im *Kjeldahl*-Kolben etwa $^3/_4$ Stunden und läßt erkalten. (Der Selenaufschluß, der allerdings schneller arbeitet, wurde wegen auftretender Vergiftungserscheinungen fallen gelassen.) Der Inhalt des Kölbchens wird quantitativ mittels ammoniakfreien dest. Wassers in einen 200-ccm-Meßkolben übergeführt, mit *Kjeldahl*-Lauge (33%ig) unter stetiger Kühlung schwach alkalisch gemacht (Prüfung mit Lackmuspapier) und schließlich mit dest. Wasser (ammoniakfrei) bis zur Marke aufgefüllt.

Nunmehr kühlt man den Meßkolben bis auf etwa 20° C ab. Der Inhalt wird gut durchgemischt und dann durch ein aschefreies Filter filtriert, wobei die ersten 15 bis 20 ccm des Filtrates verworfen werden.

10 ccm des klaren Filtrates gibt man in einen 100-ccm-Kolben, füllt ihn bis zur Marke auf, fügt 1 ccm *Neßler*sches Reagens hinzu und schüttelt gut um. Nach 5 Minuten wird die Extinktion unter Vorschaltung von Filter S 43 bei 10 bis 20 mm Schichtdicke gegen eine Lösung aus 100 ccm dest. Wasser und 1 ccm *Neßler*schem Reagens gemessen. Die Messung muß innerhalb 10 Minuten durchgeführt werden.

Berechnung: A. = 407; also bei Schichtlänge 20 mm: $c = E \times$ $\times$ 203,5 mg% N. Umrechnung auf Eiweiß: = gefundener Wert $\times$ 6,25.

Auf eine Beschreibung des Stufenphotometers ist absichtlich verzichtet worden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Fräulein *Liselotte Blievernicht* für ihre eifrige Mitarbeit bei den Untersuchungen an dieser Stelle herzlichst zu danken.

Zusammenfassung.

Wird nach dem angegebenen Verfahren gearbeitet, so eignet sich die absolute Photometrie gut zur Bestimmung von Protein in Pflanzen, im besonderen bei *Melilotus*.

Summary.

If the procedure given in the paper be followed, the determination of protein in plants may be satisfactorily carried out by absolute photometry, especially in the case of *melilotus*.

Résumé.

La photométrie absolue est bien utilisable pour la détermination de protéine dans les plantes, en particulier pour *melilotus*, si on travaille suivant le procédé élaboré ci-dessus.

Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Leipzig.

Beiträge zur mikroanalytischen Halogenbestimmung.

Von

C. Weygand und **A. Werner.**

(Eingelangt am 16. Oktober 1938.)

Da für die mikroanalytische Halogenbestimmung in organischen Substanzen keine Standardmethode zur Verfügung steht, ist der Wunsch nach solchen Verfahren, die in besonderen Fällen Vorteile bieten, verbreitet. Wir berichten im folgenden über Versuche in dieser Richtung.

A. Halogenbestimmung nach M. Busch.

Wir haben uns damit beschäftigt, die vielleicht zu Unrecht wenig beachtete Methode von *M. Busch*[1] für Milligrammengen einzurichten, bei der die Substanz in alkoholischem Kali mit katalytisch aus Hydrazin und Palladium entwickeltem Wasserstoff behandelt und das entstandene Halogenion wie üblich bestimmt wird.

Wie zu erwarten, konnten von den Reagenzien Alkali und Hydrazin nicht halogenfrei erhalten werden; der dadurch notwendig werdende Blindwert läßt sich aber mit geringem Zeitaufwand für eine praktisch beliebige Zahl von Bestimmungen völlig exakt festlegen.

Busch schließt Substanzen, die Schwefel, Phosphor, Arsen oder Quecksilber enthalten, aus; wir konnten, wie aus den Beleganalysen ersichtlich, je eine schwefel- und eine quecksilberhaltige Probe richtig analysieren, möchten dem aber keinen gar zu großen Wert beimessen.

Wir verfahren nach längeren Versuchen wie folgt:

I. Reagenzien.

1. *Äthylalkoholisches Kali:* Absoluter Alkohol wird nach *A. W. Stout* und *H. A. Schuette*[2] aldehydfrei gemacht. Zu 1000 ccm Äthanol gibt man 5 bis 10 g Zinkgranalien sowie 8 bis 10 g Kaliumhydroxyd, erhitzt eine Stunde lang am Rückflußkühler und destilliert. An Stelle von Zink

[1] *M. Busch*: Angew. Chem. **38**, 519 (1925); **47**, 536 (1934).

[2] *A. W. Stout* und *H. A. Schuette*: Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed., **5**, 100 (1933).

kann auch Aluminium verwendet werden, die Dauer des Erhitzens hängt von der Aldehydmenge ab, die angegebene Zeit gilt für einen Gehalt von 0,2%.

In 60 ccm solchen Alkohols löst man am Rückflußkühler 5 g Kaliumhydroxyd „pro analysi".

2. *Hydrazinhydrat* „pro analysi".

3. *Palladiumkatalysator:*

a) Palladiniertes Calciumcarbonat. Man schlämmt das aus 5,3 g Natriumcarbonat und 11,8 g Calciumnitrat (Tetrahydrat) frisch gefällte und ausgewaschene Calciumcarbonat (5 g) in Wasser auf, tropft eine Lösung von 0,1 g Palladiumnitrat in Wasser ein, erwärmt unter öfterem Umschütteln gelinde auf dem Wasserbad, bis die überstehende Lösung vollkommen farblos geworden ist, wäscht den nun hellbräunlich gefärbten Bodensatz auf dem Filter gründlich aus und trocknet über Schwefelsäure.

b) Palladiniertes Bariumsulfat. Die wäßrige Lösung von 56 g Bariumnitrat wird in der Hitze mit einer Lösung von 85 g Glaubersalz $Na_2SO_4 \cdot 10\,H_2O$ (etwas mehr als der berechneten Menge) in der Hitze gefällt; zu der noch heißen Suspension von Bariumsulfat gibt man 2 bis 3 Plätzchen Kaliumhydroxyd und unter dauerndem gutem Umrühren tropfenweise die Lösung von 1 g Palladium(II)-nitrat sowie 10 Tropfen in 5 ccm Wasser gelöstes Hydrazinhydrat. Nach mehrstündigem Stehen dekantiert man mehrmals mit Wasser, wäscht auf dem Filter gründlich aus und trocknet im Exsiccator.

4. *Halogenfreie Salpetersäure* ($d = 1{,}2$).

5. *5%ige wäßrige Silbernitratlösung.*

II. Ausführung der Bestimmung.

Man wägt 3 bis 5 mg der Probe im Wägeröhrchen mit langem Stiel in einen 25 ccm fassenden Erlenmeyerkolben ein, der an einen Rückflußkühler angeschliffen ist, bzw. einen passenden Normalschliff trägt. Dazu gibt man 5 ccm Alkohol, 0,3 g Palladium-Calciumcarbonat-Katalysator, 1 ccm äthylalkoholisches Kali sowie 2 Tropfen Hydrazinhydrat und erhitzt das Gemisch 10 Minuten lang auf dem Wasserbad am Rückflußkühler. Dann dampft man, abweichend von der Originalvorschrift, nach Entfernung des Kühlers den größten Teil des Alkohols fort, bringt mit Wasser auf 20 ccm und filtriert erst jetzt durch ein gewöhnliches Papierfilter, auf dem man die unlöslichen Anteile gründlich auswäscht. Darnach macht man mit halogenfreier Salpetersäure stark sauer, versetzt mit 2 ccm Silbernitratlösung, stellt 10 Minuten in ein siedendes Wasserbad, kühlt ab, filtriert nach weiteren 10 Minuten, trocknet und wägt wie üblich.

Ist erst beim Ansäuern der alkalischen Lösung mit dem Auftreten von Niederschlägen zu rechnen, was z. B. bei Halogencarbonsäuren vorkommen könnte, so verwendet man 0,3 g Palladium-Bariumsulfat-

Katalysator, verfährt im übrigen genau wie oben und filtriert erst nach dem Ansäuern, wozu man natürlich dann ein gehärtetes Filter nimmt.

Den Blindwert ermittelt man am sichersten in der eben geschilderten Weise durch Analyse einer oder mehrerer Testsubstanzen: er beträgt bei Verwendung reiner Reagenzien etwa 350 γ und ist für einen einmal vorbereiteten Reagenziensatz über mindestens einen Monat konstant. Änderungen im Halogengehalt finden an sich nur beim äthylalkoholischen Kali statt, das Halogenwasserstoffdämpfe aus der Laboratoriumsluft absorbieren kann.

Die Dauer einer Analyse beträgt bei Serienbestimmungen 50 Minuten, der Zeitaufwand ist also geringer als bei der katalytischen Verbrennung mit Platin und es fällt die gelegentlich unbequeme Wartezeit der *Carius*-Methode fort.

Beleganalysen.

	Berechnet %	Gefunden %
β-Chlornaphthalin	21,82	22,05
p-Chlorchalkon	14,62	14,84
p-Chlorbenzoesäure	22,65	22,66
α-Chlorzimtsäure	19,43	19,30, 19,42
p-Chloranilin	27,81	27,87, 28,10, 27,63
p-Chlornitrobenzol	22,51	22,49, 22,76
p-Dibrombenzol	67,77	67,49
Brombernsteinsäure ...	40,57	40,36
p-Brombenzoesäure....	39,77	39,82
p-Bromchalkon	27,84	27,92
α-Bromcampher	34,59	34,24
Bromcamphersulfosäure	25,69	25,96
Quecksilberphenyl-bromid	22,35	22,01
Jodobenzol	53,79	53,71

Die Anwendbarkeit des Verfahrens ist also recht ausgedehnt, man stößt aber doch auf Substanzen, die Schwierigkeiten machen. So liefern Polynitroverbindungen wie Bromdinitrobenzol regelmäßig zu hohe Werte.

B. Jodbestimmung.

Zur Jodbestimmung nach *Carius* hat *H. Doering*[1] kürzlich vorgeschlagen, dem Aufschluß an Stelle von Silbernitrat *Quecksilbernitrat* zuzusetzen, und das gebildete Quecksilberjodid dann zu Jodat zu oxydieren, um mit dem günstigen Äquivalenzfaktor dieser Bestimmungsform arbeiten zu können. Der Erwartung entsprechend läßt sich dies mit Milligrammengen ebenso gut durchführen, wie mit den von *H. Doering* angewendeten Decigrammen.

[1] *H. Doering*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **70**, 1887 (1937).

Man benötigt folgende Reagenzien:

1. Halogenfreie Salpetersäure ($d = 1{,}4$).
2. Quecksilber(II)-nitrat.
3. Chlorkalklösung, etwa 1 n.
4. Natriumformiatlösung (10%ig, nicht 20%ig wie bei *Doering*).
5. Kaliumjodid, jodatfrei.
6. Natriumthiosulfatlösung, $^1/_{100}$ n; Stärkelösung.

Zur Bestimmung verfährt man wie folgt:

Man beschickt die Bombe wie üblich[1] mit 3 bis 5 mg Substanz, einem erbsengroßen Stück Quecksilber(II)-nitrat und $^1/_3$ bis $^1/_2$ ccm Salpetersäure (1,4). Nach dem Erhitzen im Bombenofen und dem Öffnen des Rohres entfernt man die Substanzkapillare und spült diese sowie die abgeschnittene Spitze in einem 100 ccm fassenden Erlenmeyerkolben aus. In das Rohr gibt man erst 1 ccm Wasser und dann 2 ccm Chlorkalklösung, wodurch allzu lebhaftes Schäumen vermieden wird. Dann spült man in den Erlenmeyer über, füllt auf 50 ccm auf, erhitzt auf dem Drahtnetz zum Sieden und läßt 0,5 ccm Natriumformiatlösung zufließen. Um die letzten Chlorreste zu entfernen, hält man noch mindestens 2 Minuten im Sieden, kühlt mit Eiswasser, gibt solange festes Kaliumjodid hinzu, bis der anfangs gebildete Niederschlag wieder völlig gelöst ist, und titriert sofort mit $^1/_{100}$ n-Thiosulfat und Stärke wie üblich.

Beleganalysen.

	Berechnet %	Gefunden %
Jodobenzol	53,79	54,15, 54,04, 53,52
p-Jodanisol.....	54,25	54,29
p-Jodacetanilid	48,63	48,67, 48,49
Vanillin-triacetyl-6-jod-glucosid	23,59	23,54

Zusammenfassung.

Die Methode der quantitativen Halogenbestimmung von *M. Busch* wurde für Milligrammengen eingerichtet. Sie besitzt den Vorteil, daß der Bombenaufschluß fortfällt und eignet sich für die meisten vorkommenden Substanzen.

Nach einem Vorschlag von *H. Doering* wurde bei der mikroanalytischen Jodbestimmung nach *Carius* das Jod als HgJ_2 abgeschieden und in Jodat übergeführt. Daraus wird mit KJ elementares Jod freigemacht und mit Thiosulfat titriert, um den günstigen Äquivalenzfaktor auszunützen.

[1] *C. Weygand* und *H. Hennig*: Chem. Fabr. **9**, 9 (1936).

Summary.

Busch's method for the determination of halogens has been adapted for use on the micro scale. It has the advantage of rendering unnecessary the employment of a sealed tube, and is suitable for most substances. Following a suggestion by *H. Doering*, the iodine in the microchemical determination of iodine by *Carius*' method is precipitated as HgI_2, and subsequently converted into iodate. The iodine is liberated from this by means of KI, and then titrated with thiosulphate in order to take advantage of the favourable equivalent involved in the above reaction.

Résumé.

La méthode pour le dosage quantitative des halogènes de *M. Busch* était élaborée pour des quantités de milligrammes. Elle a l'avantage qu'elle peut être exécutée sans désagrégation dans la bombe et qu'elle est utilisable pour la plupart des substances qu'on trouve.

Comme *H. Doering* a proposé on a précipité le iode au cours de la détermination micro-analytique du iode après *Carius* comme HgI_2 et oxydé alors à iodate. Par addition de KI on met en liberté le iode élémentaire et on titre avec thiosulfate pour tirer profit des relations d'équivalence (Äquivalenzfaktor) favorables.

Aus dem Laboratorium voor analytische Chemie, Universiteit Gent (België).
Vorstand: Prof. Dr. *J. Gillis*.

Gemäldeuntersuchung.
Die Hepar-Probe bei der Analyse von natürlichem und künstlichem Ultramarin und anderen schwefelhaltigen Farbstoffen.

Von

E. Bontinck.

(Eingelangt am 17. Oktober 1938.)

I.

Zur Charakteristik der meisten Farbstoffe genügt es, darin mikrochemisch ein metallisches Element nachzuweisen. Für andere, welche auch Schwefel enthalten, pflegt man auch dieses Element nachzuweisen.[1]

Die Verbindung, in der der Schwefel am lockersten gebunden ist, ist Ultramarin.

Bisher wurden in der Literatur folgende drei Methoden beschrieben, um in diesem Fall Schwefel nachzuweisen.

A. Nachweis mit Bleiazetatpapier. Dieses wird, an einem Deckglas befestigt, über einen ausgehöhlten Objektträger gelegt. Die Farbprobe in der Vertiefung wird mit Salzsäure[2] behandelt, wobei auf dem Filtrierpapier braune Flecken von Bleisulfid entstehen. Unter den bei unseren Untersuchungen vorliegenden Bedingungen (Farbprobenentnahme an Gemälden) ist diese Reaktion nicht genügend empfindlich. Dies hat *H. Hetterich* schon in seiner Dissertation[3] nachdrücklich festgestellt.

Die Ursachen sind folgende:

1. ein Teil bleibt in dem kleinen Salzsäuretropfen aufgelöst;

2. der Raum muß mit Schwefelwasserstoff gesättigt werden (dieser ist schwerer als Luft);

[1] *S. Augusti*, Mikrochim. Acta **3**, 239 (1938).

[2] *A. M. De Wild*, Naturwissenschaftliche Gemäldeuntersuchung. München 1931. S. 16, 17; siehe auch die Reaktion mit Bleiweiß bei *A. P. Laurie*: The Pigments and Mediums of Old Masters. London 1914. S. 56, 57; *J. Scheffer*: Mouseion **13—14**, 93 (1931).

[3] *H. Hetterich*, Zum Stand und zur künftigen Entwicklung der mikrochemischen Bilduntersuchung. Dissert. München 1930.

3. „Diluted acids, on reaching with *Guimet*'s blue, cause $^3/_4$ of the sulfur present to be precipitated as free S, *while* $^1/_4$ is changed into H_2S".[1]

B. Nachweis mit Hilfe der *Feigl*schen Reaktion (Natriumazidreaktion).[2]

Diese Reaktion kann wegen des anwesenden schwefelhaltigen Bindemittels positiv ausfallen, besonders bei Lapis Lazuli, für welchen Fall in zahlreichen alten Schriften und Rezepten empfohlen wird, nicht mit Ölen, sondern mit anderen nicht gelbenden Bindemitteln anzureiben, die dann meist gebundenen Schwefel enthalten. Dies ist noch der Fall bei Gemäldefarben der Periode der Ölfarbentechnik (*De Mayerne* Ms.[3]).

C. Nachweis durch Umsetzen des Schwefels zu Thiocyanat, das seinerseits mit einer Ferrichloridlösung nachgewiesen wird.[4]

Die von *E. Grünsteidl* angegebene Reaktion besitzt eine Empfindlichkeit von 5 γ. Wenn man nun bedenkt, daß die blauen Brocken 50% des ganzen Pulvers ausmachen, der Schwefel hiervon aber nur $^1/_{20}$ des Gewichtes darstellt, ist es offenkundig, daß die Reaktion ebenfalls unter den vorliegenden Bedingungen zu wenig empfindlich ist.

II. Eine einfache und sehr empfindliche Reaktion.

Bei der Lösung eines Problems, das unter III erläutert wird, war zu entscheiden, ob Schwefelwasserstoff durch Behandlung mit verdünnter Salzsäure oder Essigsäure in Freiheit gesetzt wurde; die Entwicklung von Schwefelwasserstoff ist das Kriterium für die Entfärbung.

Der empfindlichste Nachweis des entstandenen Schwefelwasserstoffes läßt sich führen, wenn man sich einer polierten silbernen Platte bedient.

Man geht dabei folgendermaßen vor:

Ausführung. Es ist nötig, daß die Farbprobe eine gute Berührung mit der silbernen Platte aufweist. Das Farbenteilchen taucht man in einen Tropfen Wasser und verdampft dieses (über einem Asbestplättchen). Dadurch bleibt das Teilchen an der silbernen Platte kleben oder jedenfalls genügend stark haften.

Mit einem Platindraht bringt man auf das Teilchen einen Tropfen 6 n-Essigsäure. In der unmittelbaren Umgebung des blauen Farbenteilchens bildet sich bald darauf ein brauner bis schwarzer Fleck, welcher sich immer weiter vergrößert, so daß durch ein Farbenteilchen, das mit dem bloßen Auge unsichtbar ist, noch ein deutlicher Fleck hervorge-

[1] *F. M. Jaeger* u. a., Proceed. Roy. Acad. Amsterdam **30**, 887 (1927). Siehe auch S. 251: „on treating with acids...".

[2] *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen. 3. Aufl., S. 315, 316. Leipzig 1938.

[3] Vgl. Fußnote 1, S. 186.

[4] *E. Grünsteidl*, Ztschr. analyt. Chem. **77**, 283 (1929).

rufen wird, der nunmehr auch dem unbewaffneten Auge sichtbar ist (besser als unter dem Mikroskop im auffallenden Licht).

Der schwarze Fleck läßt sich mit Wasser nicht abspülen und ist in Ammoniak nicht löslich.

Die Platte ist lange Zeit benützbar. Man reinigt sie erfahrungsgemäß am besten durch Putzen mit Polierpulver (Pariser Rot), wobei dafür Sorge zu tragen ist, daß immer in derselben Richtung gerieben wird, um unregelmäßige Kratzspuren (die im Mikroskop sichtbar werden) zu vermeiden.

Andere Säuren, wie Oxalsäure, Zitronensäure, Weinsäure, sind ebensogut anwendbar; mit der im Laboratorium vorrätigen $^1/_{10}$ n-Salzsäure ist zunächst eine Blindprobe anzustellen, weil sie häufig Spuren Schwefelwasserstoff enthält, was man nach Abdampfen eines Tropfens auf der silbernen Platte an dem entstandenen schwarzen Rand feststellen kann.

Die *Empfindlichkeit* der beschriebenen Reaktion ist so groß, daß man noch einen einzelnen gefärbten Brocken Lapis Lazuli (Durchmesser 0,005 mm) nachzuweisen vermag.

Zumal es praktisch unmöglich ist, einem Gemälde nur eine derartig winzige Probe zu entnehmen, liegt hiermit die ideale mikrochemische Reaktion vor, die zur Identifizierung von Lapis Lazuli und künstlichem Ultramarin ausreicht.

Es ist unnötig, auf Aluminium zu prüfen, wie es zuweilen empfohlen wird.[1] Ebenso ist es überflüssig, eine Unterscheidungsreaktion zwischen dem natürlichen und dem künstlichen Produkt anzugeben. Hat man einmal beide Arten unter dem Mikroskop betrachtet, so ist eine Verwechslung untereinander kaum mehr möglich.

III. Verhalten von Ultramarin gegenüber verdünnter Salzsäure und Essigsäure.

Man kann an Hand der soeben beschriebenen Reaktion feststellen, ob Lapis Lazuli und künstliches Ultramarin durch die Säure entfärbt werden.

Wegen der Widersprüche, die in der Literatur enthalten sind, war eine solche Untersuchung nötig.

Nach *De Wild*[2] bleiben die blauen Brocken von Lapis Lazuli bei Behandlung mit verdünnter Essigsäure unverändert; nach *Hetterich*[3] „...(verlieren) die blauen Brocken erst allmählich ihre Färbung"; nach *Laurie*[4] „...with a weak acid it is at once bleached, thus behaving in the same way as the modern artificial ultramarine..."; nach

[1] Vgl. Fußnote 1, S. 182.
[2] *A. M. De Wild*, a. a. O., S. 16.
[3] *H. Hetterich*, a. a. O., S. 21.
[4] *A. P. Laurie*, a. a. O., S. 40, 55.

W. Geilmann[1] bleiben die blauen Teilchen in verdünnter Essigsäure unverändert, werden aber durch verdünnte Salzsäure entfärbt.

Mit Hilfe eines Quantums Lapis Lazuli, das mir freundlicherweise von der Firma Winsor & Newton (London) zur Verfügung gestellt worden war, und einer weiteren Probe von künstlichem Ultramarin, die mir die Firma Talens (Apeldoorn, Holland) in dankenswerter Weise überlassen hatte, konnte ich die oben erwähnten Reaktionen ebenso wie eine Reihe von Versuchen mit Bezug auf die eben angeführten Beobachtungen ausführen. Ihre Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I.

	Unmittelbare, völlige Entfärbung	Langsame Entfärbung	Entfärbung nach 24 Stunden	Keine Entfärbung nach 24 Stunden
Lapis Lazuli Ultramarin (dunkel)... Sulfat-ultramarin.	HCl 1 n	HCl $^1/_{10}$ n CH_3COOH $^1/_{10}$ n	HCl $^1/_{100}$ n CH_3COOH $^2/_{100}$ n	HCl $^1/_{1000}$ n CH_3COOH $^1/_{100}$ n

Aus dieser Tabelle ergibt sich die Richtigkeit des Befundes von *Laurie*.[2]

Es soll jedoch darauf hingewiesen werden, daß in Lapis Lazuli zwei Arten blauer Brocken anwesend sind, die sich nicht allein durch ihre Farbe, sondern auch durch ihr chemisches Verhalten unterscheiden. Die Entfärbung eines blassen Teilchens durch Salzsäure erfolgt nicht allein schneller als die der dunklen, sondern die dunklen werden unter Bildung gasförmiger Produkte völlig zersetzt, während von den blassen Teilchen ein trübes Skelett erhalten bleibt. Die beschriebenen Gasblasen, die man am besten bei einer stärkeren Vergrößerung (450fach) beobachten kann, sind die Ursache des Trübewerdens, das *W. Geilmann* in seiner Arbeit erwähnt.

Die dunkelblauen Brocken kann man nach halbstündiger Einwirkung von $^1/_{10}$ n-Salzsäure leicht feststellen, weil die blassen Teilchen viel rascher ganz entfärbt werden. Möglicherweise liegen hier zwei verschiedene chemische Zusammensetzungen vor. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, erfolgt dies nicht allein in $^1/_{10}$ n-Salzsäure, wie man früher ausschließlich annahm, sondern auch in Essigsäure, in dieser aber noch etwas langsamer als in verdünnter Salzsäure.

[1] *W. Geilmann*, „Chemisch-technische Untersuchung der Wand- und Gewölbemalereien in der romanischen Kirche zu Idensen". (Nachr. d. Gesellsch. d. Wissensch. zu Göttingen, Philol.-Histor. Klasse, 1938, S. 71—84.)

[2] Vgl. auch bezgl. der Entfärbung „... bei Zusatz von Säuren, insbesondere von Essigsäure oder von Salzsäure" bei der mikrochemischen Analyse: *E. Raehlmann*, „Die blauen Farben in den verschiedenen Perioden der Malerei". (Museumskunde **1913**, S. 224.)

Die Versuche wurden ausgeführt:

a) auf der silbernen Platte;

b) im Mikroproberöhrchen bei Anwendung von nur wenig Farbstoff, jedoch eines Überschusses an Säure von bestimmter Verdünnung.

Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

a) in $^1/_{10}$ n-Salzsäure und $^1/_{10}$ n-Essigsäure entfärbt sich ein Teil des Lapis Lazuli langsamer als künstliches Ultramarin.

b) Lapis Lazuli wird auch durch sehr verdünnte Essigsäure entfärbt.

Bemerkung. — *De Wild*, der mit Lapis Lazuli von derselben Herkunft arbeitete, bemerkt a. a. O., S. 16: „Die Feststellung *Lauries*, daß Essigsäure eine zersetzende Wirkung auf natürliches Ultramarin ausüben könne, konnte nicht bestätigt werden. Tatsächlich wird, wie aus alten Rezepten hervorgeht, warme Essigsäure wirklich bei der Reinigung des Minerals verwendet."[1]

Alten Vorschriften folgend, nahm ich einige Experimente mit Lapis Lazuli vor. Das Mineral war mir freundlicherweise von der Firma Talens überlassen worden. Es läßt sich in einem Mörser nicht pulvern. Wenn man das Mineral rotglühend mehrmals in warme oder kalte Essigsäure oder in kaltes Wasser wirft (was auch in alten Rezepten angegeben ist), bleibt seine Form erhalten, doch kann es nun äußerst leicht in einem Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben werden.

So lange das Lapis Lazuli in Brockenform vorliegt, kann man keine Entfärbung mit Essigsäure wahrnehmen, jedoch in Pulverform wird es, in warme Essigsäure gebracht, unmittelbar entfärbt.

In alten Rezepten wird nach diesem „Abschrecken" manchmal vorgeschrieben: „... (man) nimmt dann die *Brocken* heraus und pulvert sie". Dies wird durch die erwähnten Beobachtungen erklärt.

IV. Andere schwefelhaltige Farbstoffe.

Die Hepar-Probe ist auch brauchbar für einige andere schwefelhaltige Farbstoffe.

In folgender Tabelle ist die Säurekonzentration angegeben, die am besten angewendet wird.

Tabelle II.

Farbstoffe	Formel	Reagens
Cadmiumgelb	CdS	HCl 1 n
Cadmiumorange	CdS	
Grünes Ultramarin .	—	HCl $^1/_{10}$ n
Ultramarinviolett ..	—	
Lithopon	ZnS (+ $BaSO_4$)	HCl 6 n

Bei Zinnober (HgS), Auripigment (As_2S_3) und Realgar (As_2S_2) gelangt man zu keinem Erfolg, wie aus den analytischen Eigenschaften zu ver-

[1] *Raehlmanns* Angabe (a. a. O., S. 30), „Die späteren (Rezepte), wie die der Manuskripte von *Mayerne* und anderen, beziehen sich sicher nicht auf Lapis Lazuli, da sie bei der Bereitung Essigsäure benützen, welche das Ultramarin zerstören würde" ist unrichtig; es handelt sich in der Tat um Lapis Lazuli.

muten war. Auch für Antimonzinnober (Sb_2S_3) und Musivgold (SnS_2) ist die Hepar-Probe nicht brauchbar.

Der Firma Talens sowie der Firma Winsor & Newton bin ich zu großem Dank für ihre freigebige Schenkung verpflichtet, desgleichen Herrn Professor Dr. *T. Van Hove* (Gent) für die Farbmuster aus seiner Sammlung.

Zusammenfassung.

1. In der mikrochemischen Analyse von Lapis Lazuli und Ultramarin genügt es, den Schwefel nachzuweisen, da die beiden Mineralfarben bei mikroskopischer Betrachtung nicht verwechselt werden können. Der Verfasser bespricht die verschiedenen bisher angewendeten Methoden.

2. Der Verfasser empfiehlt, den Mineralfarbstoff auf einer kleinen Silberplatte mit 6 n-Essigsäure zu behandeln. Der dabei entstehende schwarze Fleck von Silbersulfid ist auch bei Anwendung eines noch so kleinen Partikelchens von Lapis Lazuli für das bloße Auge sichtbar.

3. Im Gegensatz zu gelegentlichen früheren Behauptungen läßt sich Lapis Lazuli durch verdünnte Essigsäure entfärben (durch $^2/_{100}$ n-Essigsäure nach 24 Stunden, jedoch nicht durch $^1/_{100}$ n-Essigsäure).

4. Die gleiche Methode ergibt auch für andere schwefelhaltige mineralische Farbstoffe ein positives Ergebnis.

Summary.

1. In the microchemical examination of lapis lazuli and ultramarine it suffices to detect the presence of the sulphur, as the two pigments cannot be confused when subjected to microscopic examination; the various procedures hitherto adopted for this purpose are discussed.

2. The author recommends treating the pigment with 6 *N*-acetic acid on a small silver plate. The resultant black spot of silver sulphide is clearly visible to the naked eye, even when a very tiny fragment of lapis lazuli is taken for the test.

3. Contrary to previously expressed opinions, lapis lazuli is decolourised by dilute acetic acid (by 0,02 *N*-acetic acid after the lapse of 24 hours, but not by 0,01 *N*-acetic acid).

4. The above method also yields positive results with other mineral pigments which contain sulphide sulphur.

Résumé.

1° Dans l'analyse micro-chimique du lapis-lazuli et de l'outremer il suffit de déceler le soufre, comme les deux couleurs minérales ne peuvent pas être confondues sous le microscope.

L'auteur discute les différentes méthodes employées jusqu'à présent.

2° L'auteur préconise de traiter la couleur minérale sur une petite plaque d'argent avec de l'acide acétique 6 *N*. La tache noire d'argent, qui se forme, est visible à l'oeil nu même en employant la plus petite particule de lapislazuli.

3° Contrairement à ce que fut parfois prétendu, le lapis-lazuli peut être décoloré par acide acétique dilué (par acide acétique 0,02 *N* après 24 heures, non par acide acétique 0,01 *N*).

4° La même méthode donne des résultats positifs aussi pour des autres couleurs minérales sulfurifères.

Fortlaufende Literaturübersicht über Arbeiten mikrochemischen Inhaltes.[1]

Von

Edith Nadler, Wien.

I. Anorganische (präparative und analytische) Chemie.[2]

Beerwald, A. und *Seith, W.* (Physikalisch-chemische Abteilung des Chemischen Institutes der Universität Münster): Einige Erfahrungen auf dem Gebiet der spektrographischen Metallanalyse mit Hilfe des kondens. Funkens und des Abreißbogens nach *Pfeilsticker*. Ztschr. Elektrochem. **44**, 814 (1938).

Boëtius, M. (Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Dresden): Die mikroanalytische Bestimmung des Quecksilbers in organischen und anorganischen Verbindungen. Ein Beitrag zu ihrer exakten Durchführung bei gleichzeitiger Anwesenheit von Chlor, Brom, Jod, Stickstoff und Schwefel. Journ. prakt. Chem. **151**, 279 (1938).

Brand, K. und *Rosenkranz, E.* (Pharmazeutisch-chemisches Institut der Universität Marburg/Lahn): Über Arsenite des Silbers und Thalliums. V. Mitteilung über pharmazeutisch wichtige Arsenverbindungen. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 538 (1938).

Castiglioni, A. (Institut für Warenkunde der kgl. Universität Turin): Über die Bestimmung kleiner Mengen von Eisen im Quecksilber. Ztschr. analyt. Chem. **114**, 257 (1938).

Denigès, G. (keine Ortsangabe): Réactions micro-cristallines, très sensibles du bismuth et de l'antimoine métalloïdiques. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1358 (1938).

Duval, C. und *Mazars, G.* (keine Ortsangabe): Recherches des halogènes à la touche. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 862 (1938). Sehr

---

[1] Bis einschließlich 15. Jänner 1939.

[2] *Durchgesehen werden vor allem:* Monatsh. Chem.; Ber. Dtsch. Chem. Ges.; Ztschr. anorgan. allg. Chem.; Ztschr. analyt. Chem., Ztschr. physikal. Chem.; Ztschr. Elektrochem.; Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Journ. prakt. Chem.; Naturwiss.; Kolloid-Ztschr.; Helv. chim. Acta; Rec. Trav. chim. Pays-Bas; Journ. chem. Soc. London; Nature; Compt. rend. Acad. Sciences; Bull. Soc. chim. France; Gazz. chim. Ital.; Journ. Amer. chem. Soc.; Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed.; Journ. Indian chem. Soc.; Bull. chem. Soc. Japan; Journ. Soc. chem. Ind. Japan; Tôhoku Sci. Rep., I. Ser.; Inst. Phys. Chem. Research, Japan, Sci. Papers.

empfindlicher Nachweis der Halogene (0,1 γ); es wird außerdem eine Arbeitsweise angegeben, die die Trennung der Halogene (Cl, Br, J) mit einer Empfindlichkeit von 0,5 γ gestattet.

Fife, James G. (The Sir John Cass Technical Institute, Jewry Street, London E. C. 3): Studies in internal electrolysis. IV. The determination of small quantities of mercury in the presence of copper and zinc. Analyst **63**, 650 (1938).

Føyn, E. (Institut für Chemie, Abteilung für Radiumforschung, Oslo): Über einige Verhältnisse in Uranmineralien. Die Zahl der vom Radium emittierten Alpha-Teilchen und das Verhältnis Actinouran : Uran. Skrifter utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Mat.-Naturv. Klasse. 1938. No. 4. (Oslo, I Kommisjon Hos Jacob Dybwad, 1938.) Ausarbeitung einer neuen Methode zur Bestimmung von Radium in Mineralien.

Gisiger, L. (Eidgenössische Landwirtschaftliche Versuchsanstalt, Zürich-Oerlikon): Die titrimetrische Bestimmung der Phosphorsäure auf der Grundlage der Methode von *N. v. Lorenz* unter Anwendung der Tauchfiltration. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 15 (1938). Beschreibung der Apparatur.

Holzmüller, W. (Leipzig, Physikalisch-chemisches Institut der Universität): Spektralanalytische Untersuchung von Stählen bei Verwendung des Funkenspektrums. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 81 (1938). In einigen Stählen werden Spuren von Beimengungen nachgewiesen.

Kluge, H., Tschubel, H. und *Zitek, A.* (Preuß. hygien. Institut, Landsberg a. d. Warthe): Über die Giftigkeit von quecksilberhaltigen Saatgutbeizmitteln. Eine verbesserte Methode zur Bestimmung kleiner Quecksilbermengen. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 321 (1938).

Kubaschewski, O. und *Weibke, F.* (Kaiser Wilhelm-Institut für Metallforschung in Stuttgart): Über die Legierungen des Indiums mit Gold. Ztschr. Elektrochem. **44**, 870 (1938). Eine Reihe von Vergrößerungen.

Masson, I. und *Argument, C.* (University of Durham [Durham Division]): The iodous sulphates. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1702. Mikrokristallbilder.

Matthews, Janet W. (Imperial College of Science and Technology, South Kensington, London S. W. 7): Microchemical investigations on siliceous dusts. Analyst **63**, 467 (1938). Eine Zusammenfassung einer Reihe von Arbeiten. Photographien.

Mühlenbach, V. (Hygienisches Institut der Universität Riga, Lettland): Zur Bestimmung geringster Manganmengen in chlorid- und kieselsäurereichen Wässern. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 254 (1938). Abänderung des *Marshall*schen Verfahrens zur genauen Bestimmung geringster Manganmengen.

Müller, R. H. und *Petras, J. F.* (Chemical Laboratories of Washington Square College, New York University): A rapid method for traces of metals by the dropping mercury electrode. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2990 (1938).

Petering, H. G. und *Daniels, F.* (Department of Chemistry, University of Wisconsin): The determination of dissolved oxygen by means of the dropping mercury electrode, with applications in biology. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2796 (1938). Beschreibung der Apparatur: Fehlergrenze der Sauerstoffbestimmung $5 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter.

Ripan-Tilici, R. (Universität Cluj): Potentiometrische Bestimmung von seleniger Säure mit Blei-Ion. Ztschr. analyt. Chem. **114**, 412 (1938). Die Ergebnisse liegen im Halbmikrogebiet.

Ripan-Tilici, R. (ebenda): Konduktometrische Bestimmung von seleniger Säure mit Blei-Ion. Ztschr. analyt. Chem. **114**, 409 (1938). Die Ergebnisse liegen im Halbmikrogebiet.

Sallinger, H. und *Hwang, J.* (Institut für Bodenkunde und Standortslehre der Universität München): Kolorimetrische Bestimmung kleinster Nitratmengen in Form von Ammoniak. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 174 (1938).

Sarudi (v. Stetina), I. (Kgl. ungarische Landwirtschaftlich-chemische Paprikaversuchsstation in Szeged, Ungarn): Über die Bestimmung der Mineralbestandteile in pflanzlichen Stoffen und Nahrungsmitteln. Österr. Chemiker-Ztg. **41**, 436 (1938). Die Bestimmungsmethode selbst ist keine Mikromethode, doch sind die sich schließlich ergebenden Endmengen sehr klein.

Schulek, E. und *Rózsa, P.* (Chemische Abteilung des Kgl. Ungarischen Hygienischen Institutes, Budapest): Das p-Äthoxychrysoidin, ein besonders geeigneter „multiformer" Indikator der Acidi- und Alkalimetrie, der Oxydimetrie (Cerimetrie, Permanganatometrie, Bromatometrie) und der Argentometrie. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 185 (1939).

Sömija, Takajuki und *Yasuda, Yosinobu* (Institute of Techno-Analytical Chemistry, Faculty of Engineering, Tokyo Imperial University): Photometric titration of cobalt, iron and copper in nickel-sulphate solution. Journ. Soc. chem. Ind. Japan **41**, 314 B (1938). Mikro- bis halbmikropräparativ.

Spengler, W. (Analytische Abteilung des Zentral-Laboratoriums der Kali-Chemie A.-G., Berlin): Über die Bestimmung der Phosphorsäure durch Titration von Ammoniumphosphormolybdat-Fällungen. Ztschr. analyt. Chem. **114**, 385 (1938).

Stamm, H. und *Goehring, M.* (Chemisches Institut der Universität Halle): Ein neues Verfahren zur oxydimetrischen Bestimmung von Wismut. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 1 (1938).

Szebellédy, L. und *Viczián, B.* (Analytisches und Pharmazeutisch-chemisches Institut der Kgl. Ungarischen Pázmány-Péter-Universität, Budapest): Die reduktometrische Bestimmung des Goldes mittels arseniger Säure. Österr. Chemiker-Ztg. **41**, 431 (1938).

Webb, D. A. (Department of Zoology, University of Cambridge): Strontium in sea-water and its effect on calcium determinations. Nature **142**, 751 (1938).

Willard, H. H. und *Greathouse, L. H.* (Chemical Laboratory of the University of Michigan): The volumetric oxydation of iodide and bromide

by periodic acid. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2869 (1938). Zum Teil Halbmikromethode.

Wada, M. (Section de Chimie Appliquée, Faculté d'Ingénieurs, Université Impériale de Kyushu): Recherches sur l'analyse quantitative des métaux alcalins par la méthode spectrographique. I. Influence réciproque des métaux alcalins sur leur sensibilité de spectre d'arc. Journ. Soc. chem. Ind. Japan **41**, 377 B (1938).

Werner, O. und *Rudolph, W.* (Staatliches Materialprüfungsamt, Berlin-Dahlem): Erörterung einiger Fehlerquellen der quantitativen Spektralanalyse unter besonderer Berücksichtigung der Bleilegierungen. Bestimmung von Arsen, Antimon, Wismut und Tellur in Blei. Angew. Chem. **51**, 899 (1938).

Wright, D. A. (Research Laboratories, General Electric Company Ltd., Wembley): Absorption of gases by tantalum. Nature **142**, 794 (1938).

Zürcher, M. und *Hoepe, G.* (Laboratorium für Organische Chemie, Eidgen. Technische Hochschule, Zürich): Über die Mikrotitration von hochverdünnten Silbersalzlösungen. Helv. chim. Acta **21**, 1272 (1938). Beschreibung einer Apparatur, die die Titration von Bruchteilen eines γ gestattet.

II. Physikalisch-chemische und physikalische Methoden.[1]

Centnerszwer, M. und *Kozuchowski, Z.* (Université J. Pilsudski, Laboratoire de Chimie physique, Varsovie): Action de l'azote sur la vapeur d'eau dans l'arc voltaïque. Bull. Soc. chim. France [5], **5**, 1690 (1938).

Cohen, E. und *Cohen-de-Meester, W. A. T.* (Utrecht, van 't Hoff-Laboratorium): Die akute Zinnpest (III). Ztschr. physikal. Chem., A, **183**, 190 (1938). Vergrößerungen.

Culbertson, J. L. und *Weber, M. K.* (Laboratory of Physical Chemistry, The State College of Washington): The densities of fine powders. II. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2695 (1938). Dichtemessungen von Quarz und Kohle in polaren und unpolaren Flüssigkeiten.

Ekwall, P. (Åbo, Finnland): Zur Kenntnis der Konstitution der verdünnten Seifenlösungen. II. Die kristallinen Abscheidungen. Kolloid-Ztschr. **85**, 16 (1938).

Griffith, R. H. und *Hill, S. G.* (Fulham Laboratory, The Gas Light and Coke Co., London S. W. 6): The catalytic oxydation of carbon disulphide and carbonyl sulphide. Journ. chem. Soc. London **1938**, 2037.

Griffon, H. (keine Ortsangabe): Un iodomercurate de triéthanolamine cristallisé. Bull. Soc. chim. France [5], **5**, 1694 (1938). Ein Mikrokristallbild.

Günther, G. und *Bonhoeffer, K. F.* (Physikalisch-chemisches Institut der Universität Leipzig): Über den Einbau von schwerem Wasserstoff in wachsende Organismen. VI. Biologische Fettsynthese. Ztschr. physikal. Chem., A, **183**, 1 (1938). Mikrophotographien.

Herzfeld, E. (Chemisches Institut der Kgl. Universität Genua): Über tyndall- und fluorescenzphotometrische Messungen zur Bestimmung geringer Substanzmengen. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 127 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Die unter I angeführten Zeitschriften.

Holubei, Horia, Cauchois, Yvette und *Cotelle, Sonia* (keine Ortsangabe): Détermination spectrographique du numéro atomique du polonium. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1204 (1938).

Holzapfel, Luise (Physikalisch-chemisches Institut der Universität Berlin): Ergebnisse und Anwendungen der Tieftemperaturforschung (Kryolyse) auf Kolloide. Kolloid-Ztschr. **85**, 272 (1938). Mikrophotogramme.

Holzmüller, W. (Leipzig, Physikalisch-chemisches Institut der Universität): Spektralanalytische Untersuchung von Stählen bei Verwendung des Funkenspektrums. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 81 (1938).

Iitaka, Ichiro und *Yamagishi, Isao* (Iitaka Laboratory): Fracture of cast iron. Inst. Phys. Chem. Research, Japan, Sci. Papers **34**, 1025 (1938). Vergrößerungen.

Jander, G. und *Mesech, H.* (Greifswald, Chemisches Institut der Universität): Die Chemie in flüssigem Schwefeldioxyd. 8. Mitteilung über Schwefeldioxydsolvate. Ztschr. physikal. Chem., A, **183**, 121 (1938).

Krause, A. (Institut für Anorganische Chemie der Universität Posen, Polen): Ein Dreistoffkatalysator aus den Hydroxyden des dreiwertigen Eisens, zweiwertigen Kupfers und des Magnesiums als anorganisches Ferment von außerordentlicher Wirksamkeit. (2. Mitteilung; mitbearbeitet von *Ludwina Kwintkiewiczowa, Adela Grochowska* und *Zbigniew Trzeciakowski*.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 161 (1939). $Mg(OH)_2$ und $Cu(OH)_2$ aktivieren Orthoferrihydroxyd stark; beträchtliche Katalase- und Peroxydasewirkung des Systems.

Kröger, C. und *Illner, K.-W.* (Breslau, Institut für Chemische Technologie der Technischen Hochschule und Universität): Über die Systeme Alkalioxyd-CaO-Al_2O_3-SiO_2-CO_2. VII. Der Einfluß von Katalysatoren auf die Einstellung des Calcit-Wollastonit-Gleichgewichtes. Ztschr. anorgan. allg. Chem. **240**, 273 (1939). Teilweise werden geringe Mengen bearbeitet.

Langmuir, J. und *Schaefer, V. J.* (Research Laboratory of General Electric Company): Salted-out protein films. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2803 (1938).

Leuthardt, F. (Chemisches Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik in Zürich): Untersuchung über die Diffusion in Gewebsschnitten. Anwendung auf die Messung der Harnstoffbildung in der Leber. Biochem. Ztschr. **299**, 281 (1938).

Ley, H. und *Specker, H.* (Chemisches Institut der Universität Münster, physikalisch-chemische Abteilung): Zur Konstitutionsbestimmung auf Grund von Lösungsspektren. Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 192 (1939).

Lotmar, W. (Hallerianum Bern; Physiologisches Institut der Universität): Über die Lichtstreuung in Lösungen von Hochmolekularen. Helv. chim. Acta **21**, 953 (1938).

Maxted, E. B. und *Evans, H. C.* (University of Bristol): The distribution factor in catalytic toxicity. Journ. chem. Soc. London **1938**, 2071.

Nitschmann, H. (Bern, Chemisches Institut der Universität): Reaktionslenkung durch Keime. Beobachtungen bei der Oxydation von Eisen

in Eisen(II)-sulfatlösung. Helv. chim. Acta **21**, 1609 (1938). Mikrophotographien.

Okamoto, Masazô (keine Ortsangabe): On the $\varkappa$-phase adjacent to λ-phase in the copper-silicon system. Tôhoku Sci. Rep., I. Ser. **27**, 155 (1938). Eine Reihe von Mikrophotographien.

Portevin, A. und *Jolivet, H.* (keine Ortsangabe): Sur un mode de décomposition de l'austénite. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1412 (1938). Vergrößerungen.

Prescott, C. H. jr. und *Morrison, J.* (Bell Telephone Laboratories): The oxide-coated filament. The relation between thermionic emission and the content of free alkaline-earth metal. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 3047 (1938).

Sakui, Seita (keine Ortsangabe): The growth of magnesium crystal in its vapour. Inst. Phys. Chem. Research, Japan, Sci. Papers **34**, 1131 (1938). Einige Vergrößerungen.

Schales, O. (Biochemisches Institut der Universität Kopenhagen): Die katalytische Beeinflussung der Luminescenz des 3-Amino-phthalsäurehydrazids durch Hämine und Häminderivate. Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 167 (1939).

Schöberl, A. und *Krumey, F.* (Chemisches Institut der Universität Würzburg): Unterschiede der Reaktionsfähigkeit von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen in organischen Verbindungen. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 2361 (1938).

Schramek, W. und *Helm, J.* (Dresden): Über die Abhängigkeit des direkten Färbevorganges bei Zellulosefasern von ihrem Feinbau. Kolloid-Ztschr. **85**, 291 (1938). Vergrößerungen, die deutlich die Ausbildung konzentrischer Zonen bei der Anfärbung zeigen.

Schwarz, K. (I. Chemisches Universitätslaboratorium Wien): Polarographische Analysenvorschriften. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 161 (1939).

Shibata, Nisaku (keine Ortsangabe): The equilibrium diagram of the copper-antimony system. Second report: The constitution of copper-rich copper-antimony alloys. Tôhoku Sci. Rep., I. Ser. **27**, 189 (1938). Eine Reihe von Mikrophotographien.

Tiselius, A. (Physikalisch-chemisches Institut der Universität Upsala, Schweden): Elektrophoretische Messungen am Eiweiß. Kolloid-Ztschr. **85**, 129 (1938). Es wird ein Mikro-Elektrophoreseapparat für etwa 2 ccm Probevolumen gezeigt.

Tourky, Riad, A. (Abbasia, Kairo [Ägypten], Chemistry Department, The University): Zum Mechanismus der Aggregation der Kieselsäure aus Natriumsilikatlösungen. II. Strukturelle Beobachtungen. Ztschr. anorgan. allg. Chem. **240**, 209 (1939). Eine Vergrößerung.

Tsuchida, R. und *Kobayashi, M.* (Department of Chemistry, Faculty of Science, Imperial University, Osaka): Spectrochemical study of microscopic cristals. I. Application of microscopes in spectrography. Bull. chem. Soc. Japan **13**, 619 (1938). Vergrößerungen.

Weygand, C., Werner, A. und *Lanzendorf, W.* (Chemisches Laboratorium der Universität Leipzig): Beiträge zur Äthylen-Stereoisomerie. III. Mitteilung über die Hydrierungsgeschwindigkeiten von *cis-trans* Isomeren. Journ. prakt. Chem. **151**, 231 (1938). Es wird gezeigt, daß aus der Hydrierungsgeschwindigkeit keine Aussage über die sterischen Verhältnisse gemacht werden kann.

Weygand, C. und *Werner, A.* (ebenda): Über die Bestimmung der katalytischen Reduktion von ungesättigten Verbindungen und über Alterungserscheinungen an Platinkontakten. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 2469 (1938).

Winkler, H. G. F. (Mineralogisch-Petrographisches Institut der Universität Rostock): Thixotropie von Mineralpulvern mikroskopischer Größe. Kolloidchem. Beih. **48**, 341 (1938).

Winkel, A. und *Haul, R.* (Kaiser Wilhelm-Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem): Ferromagnetische Eisen(III)-oxyd-Aerosole und -Hydrosole. Ztschr. Elektrochem. **44**, 823 (1938). Mikroskopische und ultramikroskopische Aufnahmen.

III. Organische Chemie (präparativ und analytisch).[1]

Achmatowicz, O. (University Joseph Pilsudski, Warsaw): Strychnine and brucine. Part 38. Exhaustive methylation of *N* (b)-Methylchanodihydroneostrychnidine and its dihydroderivative. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1472. Halbmikroversuche; Vergrößerungen.

Bálint, P. (Medizinische Klinik der kgl. Erzsébet-Universität, Pécs, Ungarn): Stufenphotometrische Tyrosin-, Tryptophan- und Cystinbestimmungen. Biochem. Ztschr. **299**, 133 (1938).

Bobrański, B., Kochańska, L. und *Kowalewska, A.* (Pharmazeutisch-chemisches Institut der Universität Lwow): Über die Einwirkung von Sulfhydrylchlorid auf Pyridinoxyd. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 2385 (1938). Mikroskopische Bilder.

Boëtius, M. (Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Dresden): Die mikroanalytische Bestimmung des Quecksilbers in organischen und anorganischen Verbindungen. Ein Beitrag zu ihrer exakten Durchführung bei gleichzeitiger Anwesenheit von Chlor, Brom, Jod, Stickstoff und Schwefel. Journ. prakt. Chem. **151**, 279 (1938).

Böhme, H. und *Schneider, E.* (Pharmazeutisches Institut der Universität Berlin): Zur Mikromolekulargewichtsbestimmung nach *Rast*. Angew. Chem. **52**, 58 (1939). Erörterungen über die *Rast*-Methode.

Emmerie, A. und *Engel, Chr.* (Laboratory of Hygiene of the University of Utrecht): Colorimetric determination of d,l-α-Tocopherol. Nature **142**, 873 (1938).

Emmerie, A. und *Engel, Chr.* (ebenda): Colorimetric determination of α-Tocopherol (Vitamin E). Rec. Trav. chim. Pays-Bas **57**, 1351 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* „Liebigs Ann." und alle unter I angeführten Zeitschriften mit Ausnahme von „Ztschr. anorgan. allg. Chem." Siehe auch unter IV, VI, VII.

Erlenmeyer, H. und *Ueberwasser, H.* (Basel, Anstalt für Anorganische Chemie): Zur Kenntnis der Eigenschaften isosterer und strukturähnlicher Verbindungen. IX. Vergleichende Untersuchungen mit 4-Oxy-benzthiazol. Helv. chim. Acta **21**, 1695 (1938).

Escher-Desrivières, J., Lederer, E. und *Verrier, M.-L.* (keine Ortsangabe): Recherches sur le pigment rétinien des *céphalopodes*. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1447 (1938). Die Untersuchungen sind teilweise mit sehr geringen Substanzmengen ausgeführt.

Fletcher, H. H. und *Taylor, J. Cl.* (Chemical Laboratory of Columbia University): The action of chlorine water on some β-amyloses. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 3018 (1938). Einige der bestimmten „Anfangsreduktionswerte" fallen ins Mikro-Halbmikrogebiet.

Friedheim, E. A. H. (Institut pathologique de l'Université Genève): Recherches sur la biochimie des champignons inférieurs. I. Isolement du pigment rouge de *Penicillium phoeniceum* (Phoenicine). Helv. chim. Acta **21**, 1464 (1938). Die nach der Aufarbeitung erhaltenen Mengen sind äußerst gering.

Furter, M. (Organisch-chemisches Laboratorium, Mikroanalytische Abteilung, Eidgen. Technische Hochschule, Zürich): Beiträge zur Mikro-*Zeisel*-Methodik. II. Die quantitative Bestimmung von Alkoxyl- und Alkylimidgruppen. Erfahrungen und Verbesserungen. Helv. chim. Acta **21**, 1144 (1938). Beschreibung und Abbildung einer neu entwickelten Mikro-*Zeisel*-Apparatur.

Furter, M. (ebenda): Die quantitative Bestimmung von Alkoxyl- und Alkylimidgruppen in leicht flüchtigen Substanzen und sehr schwer spaltbaren Verbindungen. Helv. chim. Acta **21**, 1151 (1938).

Furter, M. (ebenda): Beiträge zur Bestimmung und Kenntnis der Molekularrefraktion I. Helv. chim. Acta **21**, 1666 (1938). Ausarbeitung einer Mikrobestimmung des spezifischen Gewichtes und Beschreibung der entsprechenden Apparaturen.

Furter, M. (ebenda): Beiträge zur Bestimmung und Kenntnis der Molekularrefraktion II. Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes bei hohen Temperaturen. Helv. chim. Acta **21**, 1680 (1938).

Furter, M. und *Gubser, H.* (ebenda): Konduktometrische Mikrotitration organischer Säuren. Helv. chim. Acta **21**, 1725 (1938). Mikro-halbmikromethodisch.

Gulland, J. M. und *Jackson, E. M.* (University College, Nottingham): The constitution of yeast nucleic acid. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1492.

Karrer, P. und *Keller, H.* (Zürich, Chemisches Institut der Universität): Quantitative Bestimmung der Tocopherole in verschiedenen Ausgangsmaterialien. Helv. chim. Acta **21**, 1161 (1938).

Kellie, A. E. und *Zilva, S. S.* (Division of Nutrition Lister Institute, London): 203. The photochemical decomposition of l-ascorbic acid. Biochemical Journ. **32**, 1561 (1938).

Kleczkowski, A. (Institut für Physiologische Chemie der J. Pilsudski-Universität, Warschau): Über den Kohlenhydrat- und Lipoidgehalt

verschiedener Fraktionen von Serumalbumin der Pferde. Biochem. Ztschr. **299**, 311 (1938).

Krebser, A. und *Vannotti, F.* (Basel, J. R. Geigy A. G.): Naphthalinderivate I. Über die Einwirkung von Alkalisulfiten auf o-Diazonaphtholsulfonsäuren. Helv. chim. Acta **21**, 1221 (1938). Einige Kristallbilder.

Kringstad, H. und *Naess, Th.* (Stavanger Hermetikkindustriens Laboratorium [Forschungslaboratorium der Norwegischen Konservenindustrie]): Über die kolorimetrische Bestimmung von Nicotinsäure und Nicotinsäureamid. Naturwiss. **26**, 709 (1938).

Micheel, F. und *Bode, G.* (Organisches Institut der Universität Münster i. W.): Zur Kenntnis der Schlangengifte. (VIII. Mitteilung.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 2653 (1938).

Micheel, F. (ebenda): Zur Kenntnis der Schlangengifte. (IX. Mitteilung.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 68 (1939).

Mitchell, H. K. und *Williams, R. J.* (Chemical Laboratories of Oregon State College): A study of reduction with hydroiodic acid: use in micro-determinations of hydroxylgroups. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2723 (1938). Gute quantitative Resultate bei primären Mono- und Polyalkoholen und Oxysäuren (besonders bei negativer Substitution); bei Phenolen sowie sekundären und tertiären Alkoholen keine quantitative Anwendung möglich.

Naegeli, C., Tyabji, A. und *Conrad, L.* (Zürich, Chemisches Institut der Universität): Über den Umsatz aromatischer Isocyansäureester mit aromatischen Aminen. Helv. chim. Acta **21**, 1127 (1938).

Paget, M. und *Berger, R.* (keine Ortsangabe): Recherches sur la réaction de *Schreyer-Fosse* et sur ses applications analytiques. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 800 (1938). Ausarbeitung von Methoden zur kolorimetrischen Mikrobestimmung von Oxalsäure und Anwendung dieser Bestimmungsmethode auf die Bestimmung von Ascorbinsäure und einigen Oxysäuren.

Quackenbush, F. W., Steenbock, H. und *Peterson, W. H.* (Department of Biochemistry, College of Agriculture, University of Wisconsin): The effect of acids on carotenoids. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2937 (1938).

Raymond, W. D. (Medical Laboratory, Dar es Salaam, Tanganijika): The detection and estimation of ouabain and strophantin. Analyst **63**, 478 (1938). Mikrobestimmungen obiger Substanzen.

Reichstein, T. und *v. Euw, J.* (Laboratorium für Organische Chemie der Eidgen. Technischen Hochschule, Zürich): Über Bestandteile der Nebennierenrinde. (18. Mitteilung.) Die Verseifung von Estern reduzierender Ketole mit schwachen Alkalien. Helv. chim. Acta **21**, 1181 (1938).

Reichstein, T. und *Gätzi, K.* (ebenda): Über Bestandteile der Nebennierenrinde. (19. Mitteilung.) Die Substanzen *N* und *P* sowie Beobachtungen zur Konfiguration am Kohlenstoffatom Nr. 17. Helv. chim. Acta **21**, 1185 (1938).

Reichstein, *T.* und *v. Euw*, *J.* (ebenda): Über Bestandteile der Nebennierenrinde. (20. Mitteilung.) Isolierung der Substanzen *Qu* (Desoxycorticosteron) und *R* sowie weiterer Stoffe. Helv. chim. Acta **21**, 1197 (1938).

Reichstein, *T.* (ebenda): Über Bestandteile der Nebennierenrinde. (21. Mitteilung.) Die Konstitution der Substanzen *R* und *S*. Helv. chim. Acta **21**, 1490 (1938).

Reichstein, *T.* und *Gätzi*, *K.* (ebenda): Über Bestandteile der Nebennierenrinde. (22. Mitteilung.) Die Konstitution von Substanz *L*. Helv. chim. Acta **21**, 1497 (1938).

Schales, *O.* (Biochemisches Institut der Universität Kopenhagen): Die katalytische Beeinflussung der Luminescenz des 3-Amino-phthalsäurehydrazids durch Hämine und Häminderivate. Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 167 (1939).

Schmidt-Hebbel, *H.* und *Benavides*, *M. P. A.* (Laboratorium für Anorganische Chemie des Chemisch-Pharmazeutischen Institutes der Chilenischen Staatsuniversität, Santiago de Chile): Beitrag zur Anwendung des *Reinecke*-Salzes in der Bestimmung einiger Alkaloide. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 526 (1938).

Schön, *K.* (Laboratorio de Quimica Fisica e Quimica Biológica Universidade de Coimbra, Portugal): 204. Studies on carotenoides. V. Gazaniaxanthin. Biochemical Journ. **32**, 1566 (1938).

Slotta, *K. H.* und *Fraenkel-Conrat*, *H.* (Department of Chemistry, Istituto Butantan, São Paulo): Two active proteins from rattlesnake venom. Nature **142**, 213 (1938).

Stephenson, *M.* und *Trim*, *A. R.* (Biochemical Laboratory, Cambridge): 226. The metabolisme of adenine compounds by *bact. coli*. With a micro-method for the estimation of ribose (by *Arthur Reginald Trim*). Biochemical Journ. **32**, 1740 (1938).

Süllmann, *H.* (Universitäts-Augenklinik, Basel): Sensibilisierende Wirkung des Lactoflavins bei der photochemischen Umwandlung von Brenztraubensäure. Klin. Wchschr. **17**, 1157 (1938).

Viehoever, *A.* und *Mack*, *H.* (keine Ortsangabe): Biochemistry of may apple root *(Podophyllum peltatum)* I. Journ. Amer. pharmac. Assoc. **27**, 632 (1938). Mehrere Vergrößerungen der Ausgangssubstanzen und Abbaukörper.

Windaus, *A.* und *Bock*, *F.* (Allgemeines Chemisches Universitätslaboratorium Göttingen): Über das antirachitische Provitamin aus dem Weizenkeimlingsöl. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 47 (1938).

Zechmeister, *L.* und *Tuzson*, *P.* (Chemical Laboratory, University of Pécs, Hungary): 175. The isomerization of carotenoides. Biochemical Journ. **32**, 1305 (1938).

Zeller, *A.* (Staatslehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau, Hetzendorf-Schönbrunn, Wien): Die Bestimmung von 0,3 bis 50 mg Glukose mit dem Verfahren von *Hagedorn* und *Jensen*. Biochem. Ztschr. **300**, 78 (1938). Beschreibung eines Verfahrens von allgemeiner Anwendbarkeit.

IV. Biochemie (Mensch und Tier).[1]

Ackermann, D. und *Fuchs, H. G.* (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Würzburg): Über das Vorkommen von Nicotinsäure in der Rinderleber. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 90 (1938). Vergrößerungen.

Agner, K. (Department of Biochemistry at the Medicinska Nobelinstitutet and the Karolinska Institutet Stockholm and the Institute of Physical Chemistry, University Upsala): 221. The preparation and properties of a highly active catalase from horse liver. Biochemical Journ. **32**, 1702 (1938).

Almquist, H. J., Mecchi, E. und *Klose, A. A.* (Division of Poultry Husbandry, University of California, College of Agriculture, Berkeley): 244. Estimation of the antihaemorrhagic vitamin. Biochemical Journ. **32**, 1897 (1938).

Bacharach, A. L. und *Allchorne, E.* (Biochemical Department, Glaxo Laboratories, Greenford): 173. Investigations into the method of estimating vitamin E. II. Further observations on vitamin E deficiency and implantation. Biochemical Journ. **32**, 1298 (1938).

Bacharach, A. L. (ebenda): 261. Investigations into the method of estimating vitamin E. III. The relation between dosage and the response to vitamin E. Biochemical Journ. **32**, 2017 (1938).

Bamann, E. und *Meisenheimer, M.* (Pharmazeutische Abteilung des chemischen Instituts der Universität Tübingen): Katalytische Aufspaltung von Pyro- und Polyphosphaten. (IV. Mitteilung über „phophatatische" Wirkung von Hydrogelen). Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 2233 (1938).

Barrie, M. M. O. (Physiological Laboratories, The British Drug House Ltd. Graham Street, London, N. 1): Vitamin E deficiency in suckling rat. Nature **142**, 799 (1938).

Bernheim, F. und *Bernheim, M. L. C.* (Duke University, Medical School): Action of vanadium on tissue oxydations. Science **88**, 481 (1938).

Bhagvat, K. und *Richter, D.* (Biochemical Laboratory Cambridge and the Central Pathological Laboratory, The Maudsley Hospital, London): 186. Animal phenolases and adrenaline. Biochemical Journ. **32**, 1397 (1938).

Blom, J. und *Bak, A.* (Laboratorium der Brauerei Tuborg, Kopenhagen): Über die Bestimmung von Amylasen durch Verflüssigung von Stärkekleister. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 197 (1938).

Bomskov, Chr. (Chemisches Staatsinstitut, Hamburg, Universität): Über die biologische Auswertung und Wirkungsweise des Vitamin E (zugleich ein Beitrag zur Darstellung hochwirksamer Vitamin-E-Konzentrate). Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 627 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Ztschr. physiol. Chem.; Biochem. Ztschr.; Biochemical Journ.; Bull. Soc. Chim. biol.; Journ. biol. Chemistry; siehe auch unter V und sinngemäß unter I, III, VI, VII.

Brock, N., Druckrey, H. und *Herken, H.* (Pharmakologisches Institut der Universität Berlin): Untersuchungen über „Glykolyse". Biochem. Ztschr. **300**, 1 (1938).

Butenandt, A. und *Heusner, A.* (Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem): Ist Epi-allo-Pregnanolon-(3,20) ein androgener Wirkstoff der Pregnan-Gruppe? Ztschr. physiol. Chem. **256**, 236 (1938). Physiologische Auswertungen.

Butenandt, A. und *Schmidt-Thomé, J.* (ebenda): Überführung von Dehydroandrosteron in Progesteron: ein einfacher Weg zur künstlichen Darstellung des Schwangerschaftshormons aus Cholesterin. Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 182 (1939). Auswertung der erhaltenen Substanzen im Tierversuch.

Cauer, H. (Hygienisches Institut der Reichshauptstadt Berlin im Hauptgesundheitsamt): Chemisch-bioklimatische Studien in der Bretagne. II. Mitteilung. Beeinflussung des mitteleuropäischen Jodmilieus durch die bretonische Jodindustrie auf dem Wege der Luft. Biochem. Ztschr. **299**, 69 (1938).

Cook, A. H. (Imperial College, London, S. W. 7): Catalytic properties of phtalocyanines. Part I. Catalase properties. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1761.

Cook, A. H. (ebenda): Catalytic properties of phtalocyanines. Part II. Oxidase properties. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1768.

Cook, A. H. (ebenda): Catalytic properties of phtalocyanines. Part III. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1774.

Cook, A. H. (ebenda): Catalytic properties of phtalocyanines. Part IV. Chemiluminescent reactions. Journ. chem. Soc. London **1938**, 1845.

Cook, E. S. und *Kreke, C. W.* (Institutum Divi Thomae, Institute of Scientific Research, Cincinnati, Ohio): Fatty acids from yeast as respiratory factors. Nature **142**, 719 (1938).

Cunningham, R. N. und *Peters, P. A.* (Ham Green Hospital, Bristol): 196. Nature of the ultramicroscopic particels of serum. Biochemical Journ. **32**, 1482 (1938).

Damodaran, M. und *Krishnan, P. S.* (University, Biochemical Laboratory, Chepauk, Madras): 247. Enzymic proteolysis. II. The formation of free tyrosin in peptic digestion. Biochemical Journ. **32**, 1919 (1938).

Davidson, J. N. (Kaiser Wilhelm-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem): 184. The purification of uricase. Biochemical Journ. **32**, 1386 (1938).

Deuticke, H. J. und *Harren, F.* (Chemische Abteilung des Physiologischen Institutes der Universität Bonn): Über den Ablauf fermentativer Reaktionen unter hohem Druck. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 169 (1938).

Deotto, R. und *Ricca, O.* (Institut für experimentelle Pathologie der Universität Mailand): Die Wirkung der Harnsäure auf die Größe der Zellatmung. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 24 (1938).

Dewan, J. G. (Institute of Biochemistry, Cambridge): 183. The l(+)glutamic dehydrogenase of animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 1378 (1938).

Dickens, F. (Cancer Research Laboratory, North of England Council of the British Empire Cancer Campaign, Royal Victoria Infirmary, Newcastle-upon-Tyne): 212. Yeast fermentation of pentose phosphoric acids. Biochemical Journ. **32**, 1645 (1938).

Dimroth, K. und *Paland, J.* (Allgemeines Chemisches Universitätslaboratorium Göttingen und Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem): Über die Ultraviolettbestrahlung des $\Delta^{5,7}$-Androstadiendiols-(3.17). Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 187 (1939). Auswertung der erhaltenen Substanzen im Tierversuch.

Dyckerhoff, H. und *Goossens, N.* (Pathologisches Institut und II. Medizinische Klinik der Universität München): Über die Gerinnung des Blutes. V. Mitteilung: Über Thrombokinase. Biochem. Ztschr. **299**, 437 (1938).

Elliot, K. A. C. und *Greig, M. E.* (Biochemical Research Foundation of the Franklin Institute, Philadelphia, Pa.): 187. The distribution of the succinic oxydase system in animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 1407 (1938).

Emmerie, A. und *Engel, Chr.* (Laboratory of Hygiene, University of Utrecht): Colorimetric determination of d.l-α-Tocopherol. Nature **142**, 873 (1938).

Emmerie, A. und *Engel, Chr.* (ebenda): Colorimetric determination of α-Tocopherol (Vitamin E). Rec. Trav. chim. Pays-Bas **57**, 1351 (1938).

Enders, C. und *Hagendörfer, M.* (Wissenschaftliche Station für Brauerei in München): Untersuchungen über den Wuchsstoffgehalt von Hefen. Biochem. Ztschr. **299**, 346 (1938).

Escher-Desrivières, J., Lederer, E. und *Verrier, M.-L.* (keine Ortsangabe): Recherches sur le pigment rétinien des *Céphalopodes*. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1447 (1938). Die Untersuchungen wurden teilweise mit sehr geringen Substanzmengen ausgeführt.

Espil, L. und *Generois, L.* (Laboratoire de Chimie physiologique de la Faculté des Sciences de Bordeaux): Microdosage de la vitamine C. Bull. Soc. chim. France [5], **5**, 1532 (1938). Titrimetrische Bestimmungsmethode mit Titanchlorür.

v. *Euler, H., Bauer, E.* und *Lundberg, K.* (Stockholm, Biokemiska Institutet): Amylo-amylose- und Amylopektin-Fraktionen als Substrate phosphorylierenden enzymatischen Abbaues. Naturwiss. **26**, 790 (1938).

v. *Euler, H., Günther, G., Malmberg, M.* und *Karrer, P.* (Stockholm und Zürich, Chemische Institute der Universitäten): Axerophtol aus β-Apo-2-carotinal in der Rattenleber. Vitamin-A-Wirkung eines β-Apo-2-carotinalderivates. Helv. chim. Acta **21**, 1619 (1938).

v. *Euler, H.* und *Günther, G.* (Universität Stockholm, Biochemisches Institut): Diaphorase. Naturwiss. **26**, 676 (1938).

v. *Euler, H.* und *Malmberg, M.* (ebenda): Einfluß der Eingaben von Ascorbinsäure und Citrin auf den Gehalt des Meerschweinchenblutes an vitalfärbbaren Erythrocyten. III. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 243 (1938).

v. Euler, H., Schenk, F., Heiwinkel, H. und *Högberg, B.* (ebenda): Cozymase- und Nicotinsäureamidgehalt im Tierkörper und in der Hefe. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 208 (1938). Kleine Abänderung der Nicotinsäureamidbestimmung von *Kulikow-Barta.*

Fischer, F. G. und *Hultzsch, F.* (Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.): Über die Bindung des Eisens in Eiweißstoffen. Biochem. Ztschr. **299**, 104 (1938).

Fujita, Akiji und *Numata, Isamu* (Biochemisches Laboratorium des Kitasato-Institutes in Tokyo): Über die jodometrische Bestimmung des Glutathions in Geweben. I. Mitteilung: Bestimmung des reduzierten Glutathions. Biochem. Ztschr. **299**, 249 (1938).

Fujita, Akiji und *Numata, Isamu* (ebenda): Über die jodometrische Bestimmung des Glutathions in Geweben. II. Mitteilung: Bestimmung des Gesamtglutathions. Biochem. Ztschr. **299**, 262 (1938).

Gale, E. F. (Biochemical Laboratory, Cambridge): 206. Factors influencing bacterial deamination. III. Aspartase II. Its occurrence in and extraction from *bacterium coli* and its activation by adenosin and related compounds. Biochemical Journ. **32**, 1583 (1938).

Geitler, L. (Botanisches Institut Wien): Die Entstehung der polyploiden Zellkerne bei Heteropteren durch wiederholte Chromosomenteilung ohne Spindelbildung und Kernteilung. Naturwiss. **26**, 722 (1938). Chromosomenbilder.

Gergely, K. (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Budapest): Zur Frage des Antagonismus zwischen Vitamin C und Follikelhormon. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 122 (1938).

Gillam, A. E. (Chemistry Department, Manchester University): 197. The vitamin A_1 and A_2 contents of mammalian and other animal livers. Biochemical Journ. **32**, 1496 (1938).

Grumbrecht, P. und *Loeser, A.* (Pharmakologisches Institut und Frauenklinik der Universität Freiburg i. Br.): Die Wirkung von oestrogenen Substanzen auf den isolierten Uterus. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 356 (1938). Vergrößerungen, die deutlich die Wirkung der oestrogenen Substanzen erkennen lassen.

Günther, G. und *Bonhoeffer, K. F.* (Physikalisch-chemisches Institut der Universität Leipzig): Über den Einbau von schwerem Wasserstoff in wachsende Organismen. VI. Biologische Fettsynthese. Ztschr. physikal. Chem., A, **183**, 1 (1938). Mikrophotographien.

Harries, L. J. (Nutritional Laboratory, University, Cambridge and Medical Research Council): 195. The vitamin B_2 complex. VIII. Further notes on "monkey pellagra" and its cure with nicotinic acid. Biochemical Journ. **32**, 1479 (1938).

Hartelius, V. (Karlsberg-Laboratorium in Kopenhagen): Vergleichende Untersuchungen über den Wert der Aminosäuren als Stickstoffquelle für Hefe. Biochem. Ztschr. **299**, 317 (1938).

Havas, L. (Institute of Pathological University, Brussels): Effects of trimethylamine in plants and animals suggestive of hormonal influence. Nature **142**, 752 (1938).

Hopkins, F. G., Morgan, E. J. und *Lutwak-Mann, C.* (Biochemical Laboratory, Cambridge): 238. The influence of thiol groups in the activity of dehydrogenases. II. With an addendum on the location of dehydrogenases in muscle. Biochemical Journ. **32**, 1829 (1938).

Hübner, H. und *Verzar, F.* (Physiologisches Institut der Universität Basel): Phosphorylierung von Riboflavin durch Darmschleimhautextrakte und die Wirkung von Jodessigsäure darauf. Helv. chim. Acta **21**, 1006 (1938).

Isler, O. (Basel, Wissenschaftliches Laboratorium der F. Hoffmann-La Roche & Co. A. G.): Die Stabilisierung von d,l-α-Tocopherol. Helv. chim. Acta **21**, 1756 (1938). Zum Teil Mikro-Halbmikromethode.

Kahane, E. und *Lévy, J.* (keine Ortsangabe): Sur les constituants choliniques hydrosolubles du sang et des organes. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 642 (1938).

Kahane, E. und *Lévy, J.* (keine Ortsangabe): La choline hydrosoluble des invertébrés. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 747 (1938).

Karrer, P. und *Keller, H.* (Zürich, Chemisches Institut der Universität): Quantitative Bestimmung der Tocopherole in verschiedenen Ausgangsmaterialien. Helv. chim. Acta **21**, 1161 (1938).

Karrer, P. und *Keller, H.* (ebenda): Quantitative Bestimmung des Nicotinsäureamids in tierischen Organen. Helv. chim. Acta **21**, 1170 (1938).

Karrer, P. und *Straus, W.* (ebenda): Eigenschaften kolloider Carotinlösungen. Helv. chim. Acta **21**, 1624 (1938).

Kinnersley, H. W. und *Peters, R. A.* (Department of Biochemistry, Oxford): 199. Improvements in the use of the formaldehyde azo reaction for vitamin B_1. Biochemical Journ. **32**, 1516 (1938).

Klodt, W. und *Stieb, B.* (Medizinische Universitätsklinik Köln): Hemmt das Pyrophosphat die Oxydation des C-Vitamins? Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 341 (1938).

Krause, A. (Institut für Anorganische Chemie der Universität Posen, Polen): Ein Dreistoffkatalysator aus den Hydroxyden des dreiwertigen Eisens, zweiwertigen Kupfers und des Magnesiums als anorganisches Ferment von außerordentlicher Wirksamkeit. (2. Mitteilung; mitbearbeitet von *Ludwina Kwintkiewiczowa, Adela Grochowska* und *Zbigniew Trzeciakowski.*) Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 161 (1939). $Mg(OH)_2$ und $Cu(OH)_2$ aktivieren Orthoferrihydroxyde stark; beträchtliche Katalase- und Peroxydasewirkung des Systems.

Kringstad, H. und *Naess, Th.* (Stavanger, Hermetikkindustriens Laboratorium [Forschungslaboratorium der Norwegischen Konservenindustrie]): Über die kolorimetrische Bestimmung von Nicotinsäure und Nicotinsäureamid. Naturwiss. **26**, 709 (1938).

Kubowitz, F. (Kaiser Wilhelm-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem): Spaltung und Resynthese der Polyphenoloxydase und des Hämocyanins. Biochem. Ztschr. **299**, 32 (1938).

Landy, M. (Research Division, S. M. A. Corporation, Cleveland, Ohio): Effect of pyridine compounds on the nutrition of *Staphylococcus aureus*. Nature **142**, 618 (1938).

Lennerstrand, A. (Stockholm, Experimental-zoologische Abteilung des zootomischen Institutes der Universität): Über die Inaktivierung und Reaktivierung der Cozymase in trockener bzw. lebender Hefe. Naturwiss. **26**, 818 (1938).

Lissák, K. (Fellow of the Rockefeller Foundation, Department of Physiology, Harvard Medical School): An adrenaline-like substance in postganglionic sympathetic fibers. Science **88**, 434 (1938).

Long, C. (Department of Biochemistry, Oxford): 223. Pyruvate oxydation in brain. IV. The oxydation products of pyruvic acid. Biochemical Journ. **32**, 1711 (1938).

Lucke, H. und *Wolf, J.* (Medizinische Klinik Göttingen): Der Einfluß von Nebennierenrindenextrakt und Vitamin C auf die Calcium- und Phosphorbilanz des normalen Hundes. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 628 (1938).

Lutwak-Mann, C. (Biochemical Laboratory, Cambridge): 181. Alcohol dehydrogenase of animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 1364 (1938). Verschiedene Darstellungsmethoden für Dehydrogenase werden beschrieben.

Miescher, K., Scholz, C. und *Tschopp, E.* ("Ciba", Research Laboratories): 169. The activation of female sex hormones. III. Mono-esters of α-oestradiol. Biochemical Journ. **32**, 1273 (1938).

Mlinkó, Z. (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Budapest): Wirkung des thyreotropen Hormons und der Sexualhormone auf den A- und C-Vitaminbestand des Meerschweinchenorganismus. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 42 (1938).

Müller, P. B. (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Zürich): Das Verhalten der Oxalsäure im Blut. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 75 (1938).

Nakamura, H. (Botanisches Institut der Kaiserl. Universität Tokyo): Über die Rolle der Hydrogenase im Stoffwechsel von *Rhodobacillus palustris*. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. IV. Acta Phytochimica **10**, 259 (1938).

Needham, D. M. und *Lu Gwei Djen* (Biochemical Laboratory Oxford): 265. The specifity of coupled esterification of phosphate in muscle. Biochemical Journ. **32**, 2040 (1938).

Ochoa, S. und *Peters, R. A.* (Department of Biochemistry, Oxford): 198. Vitamin B_1 and carboxylase in animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 1501 (1938).

Peters, R. A. (ebenda): 263. The catatorulin test for vitamin B_1. Biochemical Journ. **32**, 2031 (1938). Durch seine Spezifität bedeutungsvoll für die Bestimmung sehr kleiner Mengen von Vitamin B_1 (etwa 0,2 γ).

Pillai, R. K. (Biochemical Laboratory, Cambridge): 255. Action of arsenate in glycolysis. Biochemical Journ. **32**, 1961 (1938).

Rapkine, L. (Laboratory of Biophysics, Institut de Biologie Physicochimique Paris): 225. Sulphhydryl groups and enzymic oxido-reduction. Biochemical Journ. **32**, 1729 (1938).

Reichel, L. und *Reinmuth, W.* (Chemisches Institut der Technischen Hochschule in Karlsruhe): Über die Fettbildung aus Kohlehydraten durch den Hefepilz *Endomyces vernalis*. Biochem. Ztschr. **299**, 359 (1938). Eine Vergrößerung.

Reiter, C. (Laboratory of Physiological Chemistry, University of Minnesota, Minneapolis): Tyrosine determinations. Science **88**, 379 (1938). Bestimmung in Proteinsubstanzen.

Scheunert, A. und *Wagner, K. H.* (Veterinär-physiologisches Institut der Universität Leipzig): Weitere Untersuchungen über einen angeblichen Synergismus zwischen Vitamin B_1 und Vitamin A. (III. Mitteilung zum Synergismus der Vitamine.) Ztschr. physiol. Chem. **256**, 111 (1938).

Schulze, E. und *Linnemann, H.* (Pharmakologisches Institut der Universität, Köln): Über die Beziehung zwischen Hypophysen-Vorderlappen und Schilddrüse bei Skorbut. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 448 (1938).

Schultz, A. S., Atkin, L. und *Frey, Ch. N.* (The Fleischmann Laboratories, Standard Brand Incorporated, 810 Grand Concourse, New York, N. Y.): The specifity of the fermentation test for vitamin B_1. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 3084 (1938).

Snell, E. E., Strong, F. M. und *Peterson, W. H.* (Department of Biochemistry, College of Agriculture, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin): Panthotenic acid and nicotinic acid as growth factors for lactic acid bacteria. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2825 (1938). Communication to the Editor.

Snow, G. A. und *Zilva, S. S.* (Division of Nutrition, Lister Institute London): 148. The non-specifity of the ascorbic acid oxydase. Biochemical Journ. **32**, 1926 (1938).

Stephenson, M. und *Trim, A. R.* (Biochemical Laboratory, Cambridge): 226. The metabolisme of adenine compounds by *bact. coli*. With a micromethod for the estimation of ribose (by *Arthur Reginald Trim*). Biochemical Journ. **32**, 1740 (1938).

Strack, E. und *Försterling, K.* (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Leipzig): Über die biologischen Wirkungen der Ester und des Crotonsäurebetains. Ztschr. physiol. Chem. **257**, 1 (1938).

Stone, W. E. (Laboratory of Physiological Chemistry, University of Minnesota, Minneapolis): 246. The effect of anaesthetics and of convulsants on the lactic acid content of the brain. Biochemical Journ. **32**, 1908 (1938). Beschreibung einer Methode zur Bestimmung der Milchsäure, die eine Modifizierung der *Friedemann-* und *Graeser-*Methode darstellt.

Thomas, J. (keine Ortsangabe): Contribution à l'étude des porphyrines en biologie et en pathologie. III. Action physiologique des porphyrines à l'état libre. Bull. Soc. Chim. biol. **20**, 878 (1938).

Truszowski, R., Blauth-Opieńska, J., Dobrowolska, Z. und *Iwanowska, J.* (Department of Hormone and Vitamin Assay, State Hygiene Institute, Warsaw): The determination of calcium in rat urine. Biochemical Journ. **32**, 1293 (1938). Geringe Abänderung der *Halverson-Bergeim-Van Slyke-Sendroy*-Bestimmungsmethode für Calcium.

Urbain, Ach., Caben, R., Pasquier, M. A. und *Nouvel, J.* (keine Ortsangabe): Action du zinc sur les effets de la testostérone et des prolans. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 941 (1938).

Viehoever, A. und *Mack, H.* (keine Ortsangabe): Biochemistry of may apple root *(Podophyllum peltatum)* I. Journ. Amer. pharmac. Assoc. **27**, 632 (1938). Mehrere Vergrößerungen der Ausgangssubstanzen und Abbaukörper.

Werle, E. und *Heitzer, K.* (Chemisches Laboratorium der Chirurgischen Klinik der Medizinischen Akademie in Düsseldorf): Zur Kenntnis der Histidincarboxylase. Biochem. Ztschr. **299**, 420 (1938).

Williams, R. J., Truesdail, J. H., Weinstock, H. H. jr., *Rohrmann, E., Lyman, C. M.* und *McBurney, H. Chas.* (Chemical Laboratories of Oregon State College): Panthotenic acid II. Its concentration and purification from liver. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2719 (1938).

Windaus, A. und *Bock, F.* (Allgemeines Chemisches Universitätslaboratorium Göttingen): Über das rachitische Provitamin aus dem Weizenkeimlingsöl. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 47 (1938).

Wooldridge, W. R. und *Higginbottom, C.* (London, School of Hygiene and Tropical Medicin): 224. The effect of certain bacterial toxins upon some respiratory mechanisms of animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 1718 (1938).

Zeller, E. A. (Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel): Kenntnis der Diamin-oxydase. III. Mitteilung: Über den enzymatischen Abbau von Polyaminen. Helv. chim. Acta **21**, 1645 (1938).

V. Medizinisch-chemische Methoden.[1]

Bachmann, H. (Pharmakologisches Institut der Universität Berlin): Über die Freisetzung von Histamin bei Gewebsschädigungen durch Gifte. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 345 (1938).

Bamford, F. (Medico-Legal Department, Kairo): The extraction of alcaloids and other organic drugs from viscera. Analyst **63**, 645 (1938).

Beilicke, G. (Medizinische Universitäts-Poliklinik Leipzig): Über die Wirkung von Eisen (Ceferro) auf Blut und Knochenmark von Kaninchen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 298 (1938). Vergrößerungen.

Boyland, E. und *Mawson, E. H.* (Research Institute of the Royal Cancer Hospital): 257. Experiments on the chemotherapy of cancer. II. The effect of aldehydes and glucosides. Biochemical Journ. **32**, 1982 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Wien. klin. Wchschr.; Wien. med. Wchschr.; Klin. Wchschr.; Münch. med. Wchschr.; Dtsch. med. Wchschr.; alle unter IV angeführten Zeitschriften; siehe auch sinngemäß unter VI, VII, VIII, IX.

Brdička, R. (Physico-chemical Institute, Charles University, Prague): The polarographic sero-reaction for cancer. Nature **142**, 617 (1938).

Callow, N. H., Callow, R. K. und *Emmens, C. W.* (National Institute for Medical Research London, Hampstead): 176. Colorimetric determination of substances containing the group $—CH_2 \cdot CO—$ in urine extracts as an indication of androgen content. Biochemical Journ. **32**, 1312 (1938).

Conway, E. J. und *Cooke, R.* (Department of Physiology and Biochemistry, University College, Dublin): Blood ammonia and the deaminases of adenosin and adenylic acid. Nature **142**, 720 (1938).

Corner, H. H. und *Smith, A. M.* (Edinburgh and East Scotland College of Agriculture): 234. The influence of cobalt on pine disease in sheep. Biochemical Journ. **32**, 1800 (1938).

Daubney, C. G. und *Nickolls, L. C.* (Metropolitain Police Laboratory Hendon, London N. W. 9): An investigation into the methods of toxicological analysis of viscera. Part II. The extraction of alcaloids from viscera. Analyst **63**, 560 (1938).

Elsner, H., Liedmann, A. und *Oppers, K.* (IV. Medizinische Universitätsklinik am Robert Koch-Krankenhaus in Berlin): Tierversuche mit einem gerinnungshemmenden Algenstoff aus *Delesseria sanguinea (L.) Lam.* Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 510 (1938).

v. Euler, H. und *Günther, G.* (Biochemisches Institut der Universität Stockholm): Zur Kenntnis des Diaphorase-Vorkommens im Blut und in Augenlinsen. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 229 (1938).

Goreczky, L. und *v. Ludány, G.* (Rheuma- und Bäderforschungsinstitut der Kurkommission, Budapest): Die Wirkung von Calcium auf den Grundstoffwechsel beim Menschen. Klin. Wchschr. **17**, 1544 (1938).

Grabar, P. (keine Ortsangabe): Sur l'action de la pepsine sur les anticorps antipneumococciques. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 807 (1938).

Hahn, F. (Pharmakologisches Institut der Universität Köln): Strophantinempfindlichkeit bei Blutkalkveränderungen (insbesondere durch A. T. 10). Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 719 (1938).

Hessel, G. (Frankfurt a. M.): „Über das Renin." Ein experimenteller Beitrag zur Pathogenese des renalen Hochdrucks. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 180 (1938). Von der Tagung der Pharmakologischen Gesellschaft in Berlin 1938.

Hewitt, L. F. (Belmont Laboratories [London Country Council], Sutton, Surrey): 201. Serum proteins in normal and pathological conditions. I. The blood serum of normal animals. II. Human blood serum and pathological body fluids. III. Horse serum studied by means of the precipitin reaction. Biochemical Journ. **32**, 1540 (1938).

Hoff, F. (Medizinische Poliklinik der Universität Würzburg): Untersuchungen über den Einfluß von Lactoflavin und Corticosteron auf den künstlichen renalen Diabetes. Klin. Wchschr. **17**, 1535 (1938).

Hüllstrung, H. (Universitäts-Hautklinik, Tübingen): Über die Resorption des Ulirons in den verschiedenen Abschnitten des Magen-Darmkanales im Tierversuch. Klin. Wchschr. **17**, 1515 (1938).

Jacobsen, E., Wollstein, A. und *Christensen, J. T.* (Biologisch-chemisches Laboratorium der A. G. Medicinalco Kopenhagen): Die Wirkung einiger Amine auf das zentrale Nervensystem. Klin. Wchschr. **17**, 1580 (1938).

v. Jeney, A. und *Czimmer, A. G.* (Pharmakologisches Institut der Kgl. Tisza István-Universität zu Debrecen, Ungarn): Über die Wirkungen von Rhamnetin und Hesperitin auf das Froschherz. Zusammenhang zwischen der Struktur und dem Wirkungsmechanismus der Flavon- und Flavanonsubstanzen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 648 (1938).

Jones, T. St. G. und *Wilkinson, J. F.* (Department of chemical Investigations and Research, The University and Royal Infirmary of Manchester): 179. Investigations on the nature of haemopoetin, the antianaemic principle in hog's stomach. IV. On the biochemical method of *Lasch* for the quantitative determination of "Intrinsic factor" in gastric juice. Biochemical Journ. **32**, 1352 (1938).

Joyet-Lavergne, Rb. (keine Ortsangabe): Sur l'action de la folliculine dans les transformations expérimentales des organismes mâles en intersexués ou en femelles. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1130 (1938).

Kuhn, R. und *Wendt, G.* (Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung Heidelberg, Institut für Chemie): Über die Wachstumswirkung von Adermin an der Ratte. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 127 (1938).

Leuthardt, F. (Chemisches Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik in Zürich): Untersuchungen über die Diffusion in Gewebsschnitten. Anwendung auf die Messung der Harnstoffbildung in der Leber. Biochem. Ztschr. **299**, 281 (1938).

Lichtmann, A. L. und *Chambers, W. H.* (Department of Physiology, Cornell University, Medical College): Reduced blood coagulation time by injection of sterol extract of liver. Science **88**, 358 (1938).

Mansfeld, G. und *Scheff-Pfeifer, J.* (Pharmakologisches Institut der Universität Pécs): Über die Bestimmung des Sauerstoffverbrauches unversehrter überlebender Organe im Gasraum. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 585 (1938). Beschreibung einer Halbmikromethode, die kleine Abänderungen gegen das *Warburg*sche Verfahren zeigt.

Modern, F. und *Ruff, G.* (Bakteriologisches Institut des Department Nacional de Higiene in Buenos Aires): Physikalisch-chemische Untersuchungen über den proteolytischen Abbau von Anti-Diphtherieserum. Biochem. Ztschr. **299**, 377 (1938).

Müller, A. (Genf): Chemische Studien am ikterischen Harn. III. Mitteilung: Zur Natur der grünen Farbreaktion des Harnes mit p-Dimethyl-amino-benzaldehyd. Ztschr. physiol. Chem. **256**, 95 (1938).

Neuweiler, W. (Universitäts-Frauenklinik, Bern): Über die Vitamin-C-Resorption aus der Placenta. Klin. Wchschr. **17**, 1650 (1938).

Norinder, E. (Pflanzenphysiologisches Institut in Ultuna-Upsala): Quantitativ-spektralanalytische Bestimmung von Calcium, Kalium, Natrium und Magnesium in kleinen Blutserummengen. Biochem. Ztschr. **299**, 168 (1938).

Otto, H. und *Rühmekorb, F.* (Medizinische Klinik der Martin-Luther-Universität Halle, Wittenberg): Quantitative Bestimmung des Vitamin B_1 in Körperflüssigkeiten durch Messung der Lumineszenzstärke mit dem Stufenphotometer. Klin. Wchschr. **17**, 1246 (1938).

Paget, M. und *Berger, R.* (keine Ortsangabe): Recherches sur l'allantoïnurie humaine. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 679 (1938).

Regnier, J. und *Lambin, S.* (keine Ortsangabe): Étude sur le croît microbien en fonction de la quantité de substance nutritive des milieux de culture. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1263 (1938).

Reiners, H. (Medizinische Klinik Lindenburg der Universität Köln): Die Harnstoffbildung in der überlebenden experimentell geschädigten Leber. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 452 (1938).

Richter, D. (Central Pathological Laboratory, Maudsley Hospital Denmark Hill, London): 229. Elimination of amines in man. Biochemical Journ. **32**, 1763 (1938). Verwendung einer sehr empfindlichen Mikromethode zur Bestimmung der Amine.

Robinow, C. F. und *Bland, J. O. W.* (Pathological Department St. Bartholomew's Hospital, London): Application of the *Feulgen* method to the study of viruses. Nature **142**, 720 (1938).

Sartory, A., Meyer, J. und *Schmutz, D.* (keine Ortsangabe): Étude du rapport entre la dose de vitamine hydrosoluble hétérogène et la quantité des bactéries initialement ensemencées par le contrôle de l'activation de la croissance. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1069 (1938).

Sas, L. (Physiologisch-chemisches Institut der Kgl. Pázmány-Péter-Universität Budapest): Über die Verteilung des Reststickstoffs im Blut nach Eiweißbelastung und experimenteller Nierenläsion. Biochem. Ztschr. **299**, 194 (1938).

Schales, O. und *Reiner, L.* (Pharmakologisches Institut der Universität Tartu [Dorpat], Estland): Über den anti-anämisch wirkenden Stoff der Leber. II. Mitteilung: Analytische Feststellung an Leberextrakten des Handels und einige Erfahrungen mit der Collargol-Saponinanämie. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 550 (1938).

Sokoray, L. und *Czimmer, A. G.* (Pharmakologisches Institut der Kgl. Tisza-István-Universität, Debrecen, Ungarn): Die Wirkung von Quercitrin auf den Blutgehalt der Bauchorgane. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 622 (1938).

Straub, W. (Technische Hochschule, Dresden): Psychische Alkoholwirkung und Blutalkoholgehalt. Forschung und Fortschritte **14**, 400 (1938).

Wachholder, K. (Physiologisches Institut der Universität Rostock): Über die Genauigkeit der Ascorbinsäurebestimmung im Harn mittels der Methylenblaumethode. Klin. Wchschr. **17**, 1661 (1938).

Weidenhagen, R. und *Rienäcker, H.* (Biochemische Abteilung des Institutes für Zuckerindustrie): Die Synthese von Arsono-phenyl-imidazolen. (VIII. Mitteilung über Imidazole.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 57 (1939). Auswertung der erhaltenen Produkte im Tierversuch.

Werle, E. und *Leutzen, J.* (Chirurgische Klinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf): Über die Beeinflussung der Injektionsnarkose durch kreislaufaktive Stoffe. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 328 (1938).

Winterfeld, K. (Freiburg i. Br.): Über einen herzwirksamen Stoff in der nordischen Mistel. Angew. Chem. **51**, 826 (1938). Bericht von der Naturforschertagung in Stuttgart.

VI. Pharmazie, Toxikologie, forensische Chemie; verwandte Gebiete.[1]

Bauer, H. und *Reindell, H.* (Medizinische Universitätsklinik, Freiburg i. Br.): Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglukoside. IV. Verlauf einer Digitalisvergiftung. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 461 (1938).

Brand, K. und *Rosenkranz, E.* (Pharmazeutisch-chemisches Institut der Universität Marburg/Lahn): Über Arsenite des Silbers und Thalliums. V. Mitteilung über pharmazeutisch wichtige Arsenverbindungen. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 538 (1938). Eine Mikrophotographie.

Brock, N., Druckrey, H. und *Hamperl, H.* (Pharmakologisches und Pathologisches Institut der Universität Berlin): Zur Wirkungsweise cancerogener Substanzen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 709 (1938).

Daubney, C. G. und *Nickolls, L. C.* (Metropolitain Police Laboratory, Hendon, London N. W. 9): An investigation into the method of toxicological analysis of viscera. Part II. The extraction of alcaloids from viscera. Analyst **63**, 560 (1938).

Fischer, R. und *Toth, D.* (Pharmakognostisches Institut der Universität Innsbruck): Über einige Wirkungen der Agaricinsäure, Abietinsäure und Lichesterinsäure. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 500 (1938).

Forst, A. W. (Pharmakologisches Institut der Universität München): Neue Wege zur Erkenntnis sedativer Wirkungen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 288 (1938).

Kluge, H. (Preußisches Hygienisches Institut Landsberg a. d. Warthe, Chemische und Nahrungsmittelchemische Abteilung): Über den toxikologischen Nachweis von Thallium. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 156 (1938).

Kreitmair, H. und *Wolfes, O.* (Laboratorium für Pharmakologie und Alkaloidforschung und Chemische Fabrik Merck, Darmstadt): Über Apoatropin, ein wenig bekanntes Belladonna-Alkaloid. Klin. Wchschr. **17**, 1547 (1938).

Lallemand, L. (keine Ortsangabe): Réalisation expérimentale, à l'aide de la colchicine, de poulets strophosomes. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1446 (1938).

Langecker, H. und *Lewit, K.* (Pharmakologisch-pharmakognostisches Institut der Deutschen Universität in Prag): Über die Entgiftung von Cocain und Percain sowie von Atropin im Organismus. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 492 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Arch. Pharmaz.; Pharmaz. Zentralhalle; außerdem sinngemäß unter I, II, IV, VI, VII.

Lendle, L. und *Puhlmann, H.* (Pharmakologisches Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster-Westfalen): Über die Bedeutung der Zuckerkomponente am k-Strophantinmolekül für die Haltbarkeit, Eliminationsfähigkeit und andere Wirkungsbestimmungen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 296 (1938).

Lynen, F. (Chemisches Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften München): Das Virusproblem vom chemischen Gesichtspunkt aus. Kolloid-Ztschr. **85**, 222 (1938). Einige Vergrößerungen.

McLeod, M. (Royal College of Physicians, Edinburgh): 230. The use of compounds related to p-aminobenzenesulphonamide in the treatment of certain infections in mice. Biochemical Journ. **32**, 1770 (1938).

Mieschor, K., Fischer, W. H. und *Tschopp, E.* (Wissenschaftliche Laboratorien der „Ciba", Pharmazeutische Abteilungen): Über die Wirkung einiger Enolester des Testosteron. Biochem. Ztschr. **300**, 14 (1938). Pharmakologische Untersuchungen.

Mueller, H. J. und *Klotz, A. W.* (Department of Bacteriology and Immunology, Harvard University, Medical School, Boston, Massachusetts): Panthotenic acid as a growth factor for the diphteria bacillus. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 3086 (1938).

Nagy, T. L. (Medizinisch-chemisches Institut der Universität Debreczin): Mikrobestimmung der Tabakrauchalkalität. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 506 (1938).

Oettel, H. (Pharmakologisches Institut der Staatlichen Tungchi-Universität Shanghai): Stufenphotometrische Kohlenoxydhämoglobinbestimmung. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 233 (1938). Die Bestimmungsmethode beansprucht einen Tropfen Blut und ist in 5 bis 10 Minuten ausführbar.

Pyriki, C. (Dresden.): Über Diphenylaminschwefelsäurereaktion von Tabaken. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 554 (1938).

Raymond-Hamet, M. (keine Ortsangabe): Sur les effets hypotenseurs et sympathicolytiques majeurs de l'hydrocinchonidine. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1252 (1938).

Raymond, W. D. (Medical Laboratory, Dar-es-Salaam, Tanganyika): The detection and estimation of ouabain and strophantin. Analyst **63**, 478 (1938). Mikrobestimmungen obiger Substanzen.

Sartory, A., Meyer, J. und *Schmutz, D.* (keine Ortsangabe): De l'influence favorisante la croissance bactérienne par l'introduction préalable de vitamines B_1 et B_2 combinées et à doses variées, dans le milieu de culture. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1262 (1938).

Schaumann, O. (Frankfurt a. M.-Höchst): Chemie und Pharmakologie der Lokalanaesthetica. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 30 (1938). Referat von der Tagung der Pharmakologischen Gesellschaft in Berlin 1938.

Schulek, E., Rósza, P. und *v. Szily, M.* (Chemische Abteilung des Kgl. Ungarischen Staatlichen Hygienischen Institutes, Budapest): Beiträge zur Bestimmung des freien Jods und des Jodidjods nebeneinander,

insbesondere in der Jodtinktur und Jod-Jodkalisalbe. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 765 (1938). Die Untersuchungsverfahren gehen zum Teil von Halbmikromengen aus.

Valette, G. und *Rollé, R.* (keine Ortsangabe): Étude de l'action de la chinine sur les amibes: pénétration cellulaire et toxicité. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1071 (1938).

Vogt, M. (Pharmakologisches Institut der Universität München): Pharmakologische Untersuchung des kristallisierten Giftes „Phalloidin" des Knollenblätterschwammes. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 406 (1938).

Zimritz, F. (Pharmakologisches Institut der Universität Marburg/Lahn): Acetylcholin und Cholesterin. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 594 (1938).

Zipf, K. (Pharmakologisches Institut der Albertus-Universität, Königsberg, Preußen): Die pharmakologische Wirkung des Veritols. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 679 (1938).

VII. Pflanzenphysiologische Chemie; Agrikulturchemie; Nahrungsmittelchemie.[1]

Ammal, E. K. J. (Sugarcane Breeding Station, Coimbatore, South India): A Saccharmuzea cross. Nature **142**, 618 (1938). Abbildung des Chromosomenkomplexes der Hybride.

Atkinson, H. (Government Laboratory, Nicosia, Cyprus): Palmitate determination of magnesia in water. Analyst **63**, 493 (1938). Note.

Baur, E., Gloor, K. und *Künzler, H.* (Zürich, Physikalisch-chemisches Laboratorium der E. T. H.): Über die Photolyse der Kohlensäure. Helv. chim. Acta **21**, 1038 (1938).

Bognár, G. und *Forgács, Th.* (Chemische und Nahrungsmitteluntersuchungsanstalt der Hauptstadt Budapest): Zur Nitratreaktion bei Milchprodukten. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 535 (1938).

Clarke, S. H. (Forest Product Research Laboratories): Fine structure of the plant cell wall. Nature **142**, 899 (1938).

Cockburn, T. und *Magnus, Herd.* (Chemical and City Analyst's Department, Glasgow): The proportion of copper present in tomato purée. Analyst **63**, 482 (1938).

Deleano, N. T. und *Dick, J.* (Laboratorium für analytische Chemie der Universität Bukarest): Über den Chlorophyllverlust trocknender Laubblätter und über Chlorophyllextraktion. Biochem. Ztschr. **300**, 37 (1938).

Gemeinhardt, K. (Berlin): Beiträge zur Kenntnis des Rhodangehaltes der Pflanzen. Angew. Chem. **51**, 825 (1938). Bericht von der Naturforschertagung Stuttgart.

---

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed.; Chem. Weekbl.; Ztschr. Unters. Lebensmittel; siehe auch sinngemäß in den Abschnitten III, IV.

Glaser, E., Haempel, O. und *Ranftl, F.* (Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Wien): Ein brauchbarer Test zur pharmakologischen Beurteilung bestimmter Mineralwässer, zugleich ein Beitrag zur Erklärung der Heilwirkung der Gasteiner Quellen. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 712 (1938). Prüfung der entgiftenden Wirkung gegen Sparteinsulfat im Tierexperiment.

Großfeld, J. und *Höll, K.* (Preußische Landesanstalt für Lebensmittel, Arzneimittel und gerichtliche Chemie, Berlin-Charlottenburg): Zur Bestimmung des Unverseifbaren. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 478 (1938). Ausarbeitung einer Methode, die hauptsächlich die quantitative Erfassung des Cholesterins berücksichtigt.

Gutsche, F. W. (Hygienisch-Bakteriologisches Institut der Militärärztlichen Akademie, Berlin): Begutachtung von Harzer Käse durch die bakterioskopische Untersuchungsmethode. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 209 (1938). Eine Reihe von Vergrößerungen von Bakterienaufnahmen.

Harral, J. C. (City and County Analyst's Office, Bradford, Yorkshire): The direct determination of ammonia in water. Analyst **63**, 598 (1938).

Hasselrauk, K. (Biologische Reichsanstalt, Braunschweig-Gliesmarode): Beiträge zur chemischen Bekämpfung von Rost auf Kulturpflanzen. Forschung und Fortschritte **14**, 368 (1938).

Ingleson, H. (Chemical Research Laboratory, Department of Scientific and Industrial Research, Teddington, Middlesex): Determination of lead in drinking water. Analyst **63**, 546 (1938).

Kask, M. (Hygienisches Institut der Universität Tartu, Estland): Vitamin-C-Gehalt der estnischen Honige. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 543 (1938).

Kaufmann, E. (Frankfurt a. M., Botanisches Institut der Johann Wolfgang Goethe-Universität): Über das Wachstum von Keimwurzeln unter dem Einfluß von Wuchsstoff verschiedener Konzentration. Naturwiss. **26**, 773 (1938).

Kausche, G. A. (Berlin-Dahlem, Biologische Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Dienststelle für Physiologische Botanik): Über Aktivierungseffekte mit γ-Strahlen am Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **26**, 741 (1938).

Kausche, G. A. (ebenda): Über den färberischen Nachweis des Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **26**, 741 (1938). Vergrößerungen.

Kausche, G. A. und *Stubbe, H.* (ebenda; Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie): Über Aktivierungseffekte mit Röntgenstrahlen am Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **26**, 740 (1938).

Klodt, W. und *Stieb, B.* (Medizinische Universitätsklinik Köln): Hemmt das Pyrophosphat die Oxydation des C-Vitamins? Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 341 (1938).

Klodt, W. und *Stieb, B.* (ebenda): Über den Einfluß des Äthylalkohols, der Dextrose und Saccharose auf die Stabilität des C-Vitamins. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **190**, 653 (1938).

Kluge, H., Tschubel, H. und *Zitek, A.* (Preuß. Hygienisches Institut, Landsberg a. d. Warthe): Über die Giftigkeit von quecksilberhaltigen Saatgutbeizmitteln. Eine verbesserte Methode zur Bestimmung kleiner Quecksilbermengen. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 321 (1938).

Lechner, R. und *Illig, R.* (Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Berlin): Über die Ausnutzung bei der biologischen Eiweißsynthese. I. Mitteilung: Überprüfung der analytischen Grundlagen für die Aufstellung der Pentosebilanzen. Biochem. Ztschr. **299**, 174 (1938). Die angewandten Substanzmengen sind zum Teil Halbmikromengen.

Moffitt, W. G. (Government Laboratory, London, W. C. 2): The determination of nitrite in water. Analyst **63**, 655 (1938).

Mühlenbach, V. (Hygienisches Institut der Universität Riga, Lettland): Zur Bestimmung geringster Manganmengen in chlorid- und kieselsäurereichen Wässern. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 254 (1938). Abänderung des *Marshall*schen Verfahrens zur genauen Bestimmung geringster Manganmengen.

Ohle, W. (Hydrobiologische Anstalt der Kaiser Wilhelm-Gesellschaft zu Plön in Holstein): Zur Vervollkommnung der hydrochemischen Analyse. III. Die Phosphorbestimmung. Angew. Chem. **51**, 906 (1938).

Pamfil, G. und *Maxim, M.* (Chemisch-Pharmazeutisches Laboratorium der Universität Bukarest): Der Ascorbinsäuregehalt einiger inländischer Nahrungsmittel. Klin. Wchschr. **17**, 1556 (1938).

Parker, E. A., Patzer, W. E. und *Ritter, G. J.* (Forest Products Laboratory, Forest Service, U. S. Department of Agriculture): The microstructure and the diffraction pattern of basswood ash. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2980 (1938). Vergrößerungen der Aschenrückstände, die sehr genau die Struktur des Holzes erkennen lassen.

Paschke, B. (Staatlich-Chemische Untersuchungsanstalt, Erlangen): Nachweis von Pferdefett in Mischungen mit Schweine-, Rinder- und Hammelfett. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 476 (1938).

Pfankuch, E. und *Kausche, G. A.* (Biologische Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem): Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaik-Virus und Kartoffel-X-Virus und ihre physikochemische Differenzierung. Biochem. Ztschr. **299**, 334 (1938). Eine Vergrößerung.

Quackenbush, F. W., Steenbock, H. und *Peterson, W. H.* (Department of Biochemistry College of Agriculture, University of Wisconsin): The effect of acids on carotenoids. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2837 (1938).

Rao, G. G. und *Varadanam, Ch. J.* (Andra University, Waltair): Photoammonification of organic nitrogenous compounds in the soil. Nature **142**, 618 (1938).

Reif, G. und *Steinbeck, H. J.* (Chemisches Laboratorium des Reichsgesundheitsamtes): Über das Verhalten von Aluminium und Aluminiumlegierungen gegen Milch. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 538 (1938).

Riou, P. und *Delorme, G.* (keine Ortsangabe): De la répartition du manganèse et du fer dans les frênes et les ormes de la province de Quebec. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1244 (1938).

Ripan-Tilici, R. und *Cristea, F.* (Hygienisches Institut der Universität Cluj, Rumänien): Eine Halbmikromethode zur konduktometrischen Bestimmung von Nicotin. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 44 (1938).

Sallinger, H. und *Hwang, J.* (Institut für Bodenkunde und Standortslehre der Universität München): Colorimetrische Bestimmung kleinster Nitratmengen in Form von Ammoniak. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 174 (1939).

Schmalfuß, H. und *Werner, H.* (Chemisches Staatsinstitut Hamburg, Hansische Universität): Prüfung von Backwaren auf Diacetyl und auf Methyl-acetyl-carbinol. Nachweis und Bestimmung. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 113 (1938).

Schmitt und *Lecrecq* (Société chimique de France; Section de Rennes-Angers-Nantes): Sur un mécanisme d'attaque du fer par les eaux d'alimentation. Bull. Soc. chim. France [5], 5, 1597 (1938).

Vidal, J.-L. (keine Ortsangabe): Rôle de la transpiration et de l'anhydride carbonique dans l'étiologie de la chlorose calcaire. Compt. rend. Acad. Sciences **208**, 47 (1939).

Willberg, B. (6. Mitteilung aus dem Städtischen Laboratorium zu Helsingfors): Die Bestimmung des Vitamin C in Milch. Ztschr. Unters. Lebensmittel **76**, 128 (1938).

Zachowski, J. (Pharmakologisches Institut der Universität Königsberg, Preußen): Zur Pharmakologie des Cytisins. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **189**, 327 (1938). Vergleich mit der pharmakologischen Wirkung des Nicotins.

VIII. Angewandte Chemie (technische Chemie, Mineralchemie usw.).[1]

Christmann, N. (Rheinischer Dampfkessel-Überwachungsverein Düsseldorf/Essen): Neuzeitliche Herstellung ortsfester und beweglicher Druckgasbehälter und deren Verhalten gegenüber verflüssigten und verdichteten Gasen. Chem. Fabrik **11**, 486 (1938). Photographien verschiedener zu beachtender Details.

Deflandre, G. und *Dangeard, L.* (keine Ortsangabe): *Schizosphaerella*, un nouveau microfossile méconnu du jurassique moyen et supérieure. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1115 (1938). Vergrößerungen.

Føyn, E. (Institut für Chemie, Abteilung für Radiumforschung, Oslo): Über einige Verhältnisse in Uranmineralien. Die Zahl der vom Radium emittierten Alpha-Teilchen und das Verhältnis Actinouran : Uran. Skrifter utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Mat.-Naturv. Klasse. 1938. No. 4. (Oslo, I Kommisjon Hos

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed.; Chem. Weekbl.; Journ. Soc. chem. Ind. Japan; siehe auch sinngemäß in allen bisher angeführten Abschnitten (ausgenommen V, VI) und Abschnitt IX.

Jacob Dybwad, 1938.) Ausarbeitung einer neuen Methode zur Bestimmung von Radium in Mineralien.

Fuchs, O. und *Brendlein, H.* (Chemisch-Technisches Institut der Technischen Hochschule Darmstadt): Die Wirkung des Schwefels bei der katalytischen Hochdruckhydrierung. Angew. Chem. **52**, 49 (1939). Zum Teil Halbmikroversuche.

Gerth, G. (Deutsches Forschungsinstitut für Steine und Erden, Köthen): Die Bedeutung der Aufbereitung von Steinen und Erden für die Rohstoffbewirtschaftung Deutschlands. Chem.-Ztg. **62**, 897 (1938).

Grote, F. (keine Ortsangabe): Die maßanalytische Bestimmung geringer Mengen Blei in Zinkblenden (Schnellmethode). Ztschr. analyt. Chem. **115**, 8 (1938).

Hein, Fr., Klein, A. und *Mesée, H. J.* (Chemisches Laboratorium der Universität Leipzig): Zur titrimetrischen Bestimmung von Blei-Organoverbindungen. Ztschr. analyt. Chem. **115**, 177 (1938). Anwendung zur Bestimmung der Bleialkyle in Benzin.

Lassieur, A. (keine Ortsangabe): Appareil pour le microdosage du carbone dans les produits sidérurgiques. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 731 (1938).

Reynolds, W. C., Paneth, F. A. und *Edgar, J. L.* (16 Southern Drive, Anlaby Park Hull—Imperial College of Science and Technology, London S. W. 7): A concentration and measurement of atmospheric ozone. Nature **142**, 571 (1938).

Ryschkewitsch, E. (Frankfurt a. M.): Über die Verbrennlichkeit einiger Graphite. II. Chem.-Ztg. **63**, 43 (1939). Vergrößerungen.

Sabrou, L.-G. und *Renaudie, E.-M.* (keine Ortsangabe): Formation de produits asphaltiques visibles au microscope au cours du vieillissement d'huiles de graissage. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 1050 (1938). Vergrößerungen.

Schramek, W. und *Zehmisch, E.* (Forschungsinstitut für Textilindustrie in Dresden): Der Einfluß des Xanthogenierungsgrades auf den Spinnvorgang. Ein Beitrag zur Theorie der Faserbildung bei der Erzeugung künstlicher Fasern. Kolloidchem. Beih. **48**, 93 (1938). Mikroskopische Prüfungen des Faserquerschnittes.

Schramek, W. und *Christoph, H.* (ebenda): Die Löslichkeit von Zellwollen in Ätznatronlaugen und ihre Abhängigkeit vom Faserfeinbau. Kolloidchem. Beih. **48**, 227 (1938). Mikroskopische Querschnitte von Viskose-Zellwolle.

Schramek, W. und *Helm, J.* (ebenda): Über die Abhängigkeit des direkten Färbevorganges bei Zellulosefasern von ihrem Feinbau. Kolloid-Ztschr. **85**, 291 (1938). Vergrößerungen, die deutlich die Ausbildung konzentrischer Zonen bei der Anfärbung zeigen.

Stanley Smith, G. (166, Wickham Chase, West Wickham, Kent): Determination of nickel and boric acid in nickel-plating solutions. Analyst **63**, 593 (1938).

Steiner, M. (Stuttgart, Botanisches Institut der Technischen Hochschule, und Langenargen am Bodensee, Institut für Seenforschung der Kaiser

Wilhelm-Gesellschaft): Zur Kenntnis des Phosphatkreislaufes in Seen. Naturwiss. **26**, 723 (1938).

Taylor-Austin, E. (British Cast Iron Research Association, Birmingham): The determination of aluminium in cast iron. Analyst **63**, 566 (1938).

Werner, O. (Staatliches Materialprüfungsamt, Berlin-Dahlem): Erörterungen einiger Fehlerquellen der quantitativen Spektralanalyse unter besonderer Berücksichtigung der Bleilegierungen. Bestimmung von Arsen, Antimon, Wismut und Tellur in Blei. Angew. Chem. **51**, 899 (1938).

IX. Apparative Behelfe.[2]

Bürger, K. (Organisch-chemisches Institut der Technischen Hochschule München): Über eine Vereinfachung der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungsmethode nach *Pregl*. Ber. Dtsch. chem. Ges. **72**, 40 (1939). Mit Abbildungen.

Craig, R. und *Patton, R. L.* (Laboratory of Insect Physiology and Toxicology, Division of Entomology and Parasitology, University of California, Berkeley, California): A micro-conductivity cell of simple design. Science **88**, 386 (1938).

Ficklen, J. B. (Travellers Insurance Compagny, Hartford, Conn.): A simple combustion type of carbon monoxide estimator. Science **88**, 411 (1938).

Furter, M. (Organisch-chemisches Laboratorium, Mikroanalytische Abteilung, Eidg. Technische Hochschule, Zürich): Beiträge zur Mikro-*Zeisel*-Methodik. II. Die quantitative Bestimmung von Alkoxyl- und Alkylimidgruppen. Erfahrungen und Verbesserungen. Helv. chim. Acta **21**, 1144 (1938). Beschreibung und Abbildung einer neuentwickelten Mikro-*Zeisel*-Apparatur.

Lassieur, A. (keine Ortsangabe): Appareil pour le microdosage du carbone dans les produits sidérurgiques. Compt. rend. Acad. Sciences **207**, 731 (1938).

Meyer, W. (keine Ortsangabe): Fortschritte auf dem Gebiet der Mikroskopie. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 697 (1938). Zusammenfassung.

Parnas, J. K. (Medizinisch-chemisches Institut der Universität Lwów): Über die Ausführung der Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* in der Modifikation von *Parnas* und *Wagner*. Ztschr. analyt. Chem. **114**, 261 (1938).

Tiselius, A. (Physikalisch-chemisches Institut der Universität Upsala, Schweden): Elektrophoretische Messungen am Eiweiß. Kolloid-Ztschr. **85**, 129 (1938). Es wird ein Mikroelektrophoreseapparat beschrieben, der für kleine Probevolumina (etwa 2 ccm) verwendet werden kann.

[1] *Durchgesehen werden vor allem:* Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. Engin. Chem., Analyt. Ed.; Journ. Lab. clin. Med.; siehe auch sinngemäß in allen angeführten Abschnitten.

Buchbesprechungen.[1]

C. J. van Nieuwenburg, W. Böttger, F. Feigl, A. S. Komarovsky, N. Strafford: **Tables of reagents for inorganic analysis — Tabellen der Reagenzien für anorganische Analyse — Tableaux des réactifs pour l'analyse minérale.** Erster Bericht der „Internationalen Kommission für neue analytische Reaktionen und Reagenzien" der „Union internationale de Chimie". XXIV, 409 S. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. 1938. RM 34.—, geb. RM 36,—.[2]

Der Umstand, daß in dem letzten Jahrzehnt die qualitative Analyse durch eine sehr große Zahl neuer Reagenzien bereichert worden ist, hat die genannte Kommission veranlaßt, über die aufgefundenen neuen Reaktionen in geeigneten Intervallen kritische Berichte von dokumentarischem Charakter herauszugeben, von welchen der erste Bericht in diesem Jahre erschienen ist. Das Buch umfaßt 409 Seiten, davon entfallen auf Reagenzien zum Nachweis der Anionen 286 Seiten, zum Nachweis der Kationen 67 Seiten und schließlich auf das Reagensregister 54 Seiten. Als Reagenzien werden solche Stoffe verstanden, die bewußt für die Identifizierung eines Bestandteiles benutzt werden. Die Auswahl wurde so getroffen, daß allbekannte Gruppenreagenzien und solche, die in gewöhnlichen Lehrbüchern zu finden sind, nicht aufgenommen wurden, ebensowenig Reagenzien, deren Unbrauchbarkeit offenkundig ist. Dagegen wurden alle neuen Reagenzien, die von Ende 1910 bis 1936 aufgefunden wurden, und darüber hinaus auch Reagenzien, die im Hinblick auf analytisch wichtige Fragestellungen bearbeitet wurden, aufgenommen.

Das Buch ist in englischer, deutscher und französischer Sprache abgefaßt. In den Tabellen finden sich bei jedem einzelnen Anion oder Kation folgende Angaben: 1. Name des Reagens; 2. Typus der Reaktion (Fällungsreaktion, Farbenreaktion, katalytische Reaktion oder andere Reaktionsart); 3. Ausführung der Reaktion und Erscheinungen; 4. Empfindlichkeit (ausgedrückt als Erfassungsgrenze nach *F. Feigl* und als Verhältnis der Menge des Bestandteiles zur Menge der Lösung ohne Reagens); 5. Bemerkungen, z. B. ob mehrere Elemente die gleiche oder ähnliche Reaktion geben, ob andere Elemente die Reaktion stören oder nicht u. dgl. Für jeden einzelnen Tabellenabschnitt ist die zugehörige Literatur angegeben.

Um diese vielen Angaben unterzubringen, ohne dem Buche einen allzu großen Umfang zu geben, wurden viele Abkürzungen und Zeichen einge-

---

[1] Da die Zeitschrift „Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta" vornehmlich zur Veröffentlichung von Originalarbeiten bestimmt und auch für diese eine knappe Darstellung erforderlich ist, um eine möglichst schnelle Publikation zu gewährleisten, können nur solche Bücher besprochen werden, deren Inhalt für die Mikrochemie von Interesse ist.

[2] Vgl. die Besprechung in: Mikrochim. Acta **3**, 348 (1938).

führt, die eingangs übersichtlich verzeichnet sind und in drei Sprachen erklärt werden. Das Buch, dessen Druck und Ausstattung sehr gefällig sind, wird für jedes chemische Laboratorium Interesse haben, für den Analytiker der qualitativen anorganischen Richtung ist es unentbehrlich.

A. Friedrich-Wien.

W. Seith und *K. Ruthardt:* **Chemische Spektralanalyse.** Eine Anleitung zur Erlernung und Ausführung von Spektralanalysen im chemischen Laboratorium. (Anleitung für die chemische Laboratoriumspraxis, herausgegeben von *E. Zintl*, Band I.) Mit 60 Abb. im Text u. 1 Tafel, VII und 103 S. Berlin: Julius Springer. 1938. RM 7,50.

In den letzten Jahren haben spektralanalytische Untersuchungen immer mehr Eingang in chemischen Laboratorien gefunden. Besonders durch die Untersuchungen von *W. Gerlach* und seinen Schülern über die chemische Emissionsspektralanalyse sowie durch die sichere physikalische Begründung dieser Methode ist die chemische Spektralanalyse heute bereits zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel der Forschung, Betriebsführung und Betriebskontrolle geworden. Sie ergänzt und verbessert die gravimetrische Analyse überall dort, wo es auf die Schnelligkeit des Verfahrens, die Analyse kleinster Substanzmengen, die vollständige Erhaltung der Substanz, die Erkennung der Verteilung eines Elementes in einer Substanz und damit auch auf die Unterscheidung prinzipieller und zufälliger Verunreinigungen ankommt. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, daß das Analysenergebnis auf der photographischen Platte festgehalten werden kann.

Es ist daher sehr zu begrüßen, daß die Literatur dieses Gebietes durch die Ausgabe eines Buches bereichert worden ist, welches eine Lücke zwischen den großen Spezialwerken dieses Gebietes und den allgemeinen Lehrbüchern der Physik ausfüllt.

Der Untertitel des vorliegenden Buches gibt den Zweck und damit auch den Umfang des Buches an. Es will kein Lehrbuch sein, sondern bringt in der Form eines Übungsbuches das Wichtigste auf dem Gebiete der Spektralanalyse an der Hand von 22 Übungsbeispielen.

Das Buch zerfällt in vier Abschnitte. Der 1. Abschnitt enthält die allgemeinen Grundlagen. Es werden die Methoden der Lichtanregung besprochen, die einzelnen Teile eines Spektralapparates beschrieben und die wichtigsten Grundlagen über Dispersion und Auflösung sowie über die Entstehung der Spektren gebracht. Der 2. Abschnitt behandelt die qualitative Analyse. Die 8 Aufgaben dieses Abschnittes tragen folgende Überschriften: Analyse der Bunsenflamme, Spektren der Gase, photographische Aufnahme eines Spektrums, Aufnahmeverfahren und Anregungsarten, Bestimmung der Wellenlänge und Aufstellung einer Dispersionskurve, Spektren und periodisches System, qualitative Analyse, Koinzidenz und Reinheitsprüfung. Der 3. Abschnitt ist mit 7 Aufgaben der quantitativen Analyse gewidmet. Es werden nachfolgende Aufgaben behandelt; Abhängigkeit des Spektrums von den Entladungsbedingungen, quantitative Analyse nach der Methode der homologen Linienpaare, Photometrieren eines Spektrums, Dreilinienverfahren, Analyse durch Schwärzungsvergleich, quantitative Spektralanalyse mit dem visuellen Spektralphotometer, Herstellen von Testlegierungen. Der letzte Abschnitt bringt Verfahren für besondere Zwecke, und zwar: Erhitzungsanalyse, Analyse von Salzen und festen, nichtmetallischen Proben, Lokalanalyse, Analyse von Lösungen, Hochfrequenzfunken, Farbenempfindlichkeit der Photoplatten, Absorptionsspektren. Die angeführten

Überschriften der Aufgaben beweisen, wie außerordentlich reichhaltig und vielseitig der Inhalt des Buches ist. Die einzelnen Aufgaben bringen zuerst die Angabe der verwendeten Apparate, die verwendeten Proben, die Angabe der Aufgabe und dann sehr ausführlich ihre Durchführung. Außer dem speziellen Teil bringen die Aufgaben noch eine Menge von Ratschlägen allgemeiner Natur auf diesem Gebiet, so daß das Buch über alle im Anfang nur irgendwie auftretenden Schwierigkeiten Auskunft gibt. Die dem Buch beigegebenen Bilder, Diagramme, Tabellen und photographischen Aufnahmen von Spektren bilden eine wertvolle Bereicherung und ermöglichen einen Vergleich eigener Aufnahmen mit den Musteraufnahmen des Buches.

Die Darstellung des Stoffes ist klar und übersichtlich. Die schöne Ausstattung des Buches kommt besonders den Photographien der Spektren sehr zugute. *M. Kindinger*-Wien.

L. Zechmeister und *L. v. Cholnoky*: **Die chromatographische Adsorptionsmethode.** Grundlagen, Methodik, Anwendungen. Zweite, wesentlich erweiterte Auflage. Mit 74 Abbildungen. XIII, 354 S. Wien: Julius Springer. 1938. RM 19,80.

Nach knapp $1^1/_2$ Jahren ist das handliche Buch in zweiter Auflage erschienen. Auch diese zeigt wieder, daß niemand besser zu einer solchen Darstellung berufen sein könnte als die Autoren und daß sie ihre Aufgabe in vorbildlicher Weise zu lösen verstanden.

Was die Neuauflage besonders auszeichnet, ist die erhebliche Erweiterung des Umfanges (um rund die Hälfte) und Hand in Hand damit eine entsprechende Vermehrung der Tabellen, Abbildungen und Literaturzitate, wodurch es gelang, dem mächtigen Flusse der Entwicklung dieser neuen Arbeitsmethode Schritt zu halten.

Die Kapitel über Grundlagen und Methodik vereinen in straffer und doch vollständiger Fassung alles, was zum Verständnis und zur praktischen Anwendung nötig ist. Sie werden es jedermann ermöglichen, die natürlichen Grundlagen der Methode in allen ihren Ausführungsformen zu verstehen, sie können als experimentelle Einführung für den praktischen Anfänger dienen und sie werden den in der Handhabung der Methodik Vorgeschrittenen in keiner Frage im Stich lassen, die überhaupt schon eine Bearbeitung fand.

Was das Buch aber — bei seinem immerhin bescheidenen äußeren Umfang — in dem nach Angabe der Autoren „bewußt unvollständigen" speziellen Teil noch darüber hinaus über die Erfolge der Chromatographie bei ihrer Anwendung auf gefärbte und ungefärbte Verbindungen berichtet, das läßt wohl erst die Bedeutung der grundlegend neuen Arbeitstechnik für alle Gebiete der organischen Chemie richtig einschätzen. Obwohl sich die Darstellung dieser Anwendungsgebiete naturgemäß auf die Schilderung der chromatographisch gelösten Teilfragen beschränkt, wird deren Stellung und Bedeutung innerhalb des jeweiligen Gesamtproblems mit wenigen Worten so meisterhaft umrissen, daß das Buch zu einer spannenden und nutzbringenden Lektüre auch für einen Chemiker wird, der im Augenblick vielleicht nicht daran denkt, die Methodik selbst anzuwenden. Es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß er sich nach dem Studium des Buches der Versuchung nicht entziehen kann, gegebenenfalls die Chromatographie doch auch in seinem Arbeitsgebiet zu erproben, und so sind die besten Aussichten gegeben, daß die im Vorwort ausgesprochene Hoffnung der Autoren sich erfüllt, daß sie „zum weiteren Durchdringen der noch immer nicht gebührend anerkannten Methodik" durch ihr Werk beitragen.

Tadellose Ausstattung, reiches Formel- und Tabellenmaterial erleichtern das Studium, so wie auch die ausgezeichneten Abbildungen von Chromatogrammen es in bester Weise beleben.

Am Schlusse bringt das Buch ein neues Kapitel über die ersten Anwendungen der Chromatographie in der anorganischen Chemie und Analyse, das ebensoviel Anregung bietet wie die Kapitel aus der organischen Chemie.

Die spezielle Bedeutung der Chromatographie im Sinne der „Mikrochemie" liegt auf der Hand. Die Methodik entspricht in der gebräuchlichsten Ausführungsform bezüglich der umgesetzten Substanzmengen ungefähr den sogenannten „Halbmikro- oder Zentigramm-Methoden" (10 bis 100 mg). Unhandlich wird höchstens die Bearbeitung wesentlich größerer Mengen. Dagegen bieten sich unter den „Mikromethoden" der Chromatographie, denen übrigens ein besonderes apparatives Kapitel gewidmet ist, viele Beispiele für die Trennung oder den Nachweis von Bruchteilen eines Milligramms bis zu 1 γ herab.

Unter anderem wird die Bestimmung des Mengenverhältnisses der beiden Chlorophylle beschrieben, zu der 1 bis 2 Laubblätter genügen. Die Beimengung von $^1/_{30\,000}\%$ Naphthacen im Anthracen läßt sich chromatographisch nachweisen. Aus 100 ccm einer Lösung von Strychnin 1 : 1 000 000 gelingt eine quantitative Abscheidung des Alkaloids durch einmalige Chromatographie. Schließlich zeigte sich bei den ersten Arbeiten in der anorganischen Chromatographie, daß die meisten Reagenzien einer chromatographischen Vorreinigung bedurften. Weitere Beispiele über die Bedeutung des Buches im besonderen auch für den Mikrochemiker brauchen wohl nicht angeführt zu werden. *R. Dworzak*-Wien.

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Julius Springer, Wien I, Schottengasse 4. — Verantwortlicher Schriftleiter: Dr. *Friedrich Hecht*, Wien IX, Währingerstraße 38. — Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien IX, Lustkandlgasse 52.